UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1940-1941 N° 271

Contribution à l'Étude de la Flore Microbiologique des conserves de viande et d'abats

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 30 Avril 1941
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

NACHED Lancin Salib
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. SARTORY, Doyen, Président ; M. Y. VOLMAR, Professeur ; M. P. CORDIER, Professeur — Juges

CLERMONT-FERRAND
IMPRIMERIE GÉNÉRALE, 2, COURS SABLON

1941

UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1940-1941 N° 271

Contribution à l'Étude de la Flore Microbiologique des conserves de viande et d'abats

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 30 Avril 1941
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

NACHED Lancin Salib
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. SARTORY, Doyen, Président ; M. Y. VOLMAR, Professeur ; M. P. CORDIER, Professeur — **Juges**

CLERMONT-FERRAND
IMPRIMERIE GÉNÉRALE, 2, COURS SABLON

1941

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ❋, I. ✪, C. ✠
VOLMAR, *Assesseur*, I. ✪.
MARANDON, *Secrétaire*, ❋ ⚚, ⚜, ✪.

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ❋, I. ✪, ✠.

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ❋, I. ✪, C. ✠	Bactériologie.
	LAVIALLE, ❋, I. ✪, ✠	Botanique
	VOLMAR, I. ✪	Chimie organique.
	GUILLAUME, ❋, ⚚, I. ✪, ✠	Pharmacie galénique.
	LAPP, I. ✪	Chimie analytique.
	CORDIER, ✪	Pharmacie chimique.
	R. SARTORY, ✪, ✠	Matière médicale.

MAITRE DE CONFÉRENCE

M.	DUQUENOIS	Toxicologie.

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ❋, I. ✪, ✠.

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY	Hygiène.
	LAVIALLE	Hydrologie.
	VOLMAR	Chimie minérale.
	GUILLAUME	Zoologie
	LAPP	Physique
	PRÉLOT	Législation et Déontologie.
	CORDIER	Chimie biologique.
	R. SARTORY	Cryptogamie.
	Mme LALLEMAND, ✪	Pharmacodynamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, ⚚, I. ✪	Chimie pharmaceutique.
	Mme LALLEMAND, ✪	Chimie et Physique.
	LEDOUX	Bactériologie et Parasitologie
	JÆGER	Histoire naturelle.

UNIVERSITÉ DE CLERMONT

ECOLE DE PLEIN EXERCICE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

PROFESSEURS DE PHARMACIE

DIRECTEUR :

M. J. CASTAIGNE, C. ✻, I. ✪ .... Membre associé national de l'Académie de Médecine.

PROFESSEURS :

MM.	L. BERT, I. ✪	Chimie biologique.
Mme	L. BLANQUET, ✻, I. ✪	Physique.
MM.	P. FEBVRE, ✪	Pharmacie galénique
	J.-B. FOURNIER, I. ✪	Matière médicale.
	M. D. GAUTHIER, I. ✪	Chimie.
	M. LEVADOUX, O. ✻, I. ✪	Hydrologie.
	P. MORNAC, I. ✪	Bactériologie et hygiène.
	R. VAURS, ✪	Histoire naturelle. Parasitologie.

PROFESSEUR SUPPLÉANT

M. G. DASTUGUE..... Physiologie

SECRÉTAIRE

M. G. CUVIER, I. ✪.

A MON PÈRE, A MA MÈRE

Dont la vie me sera le meilleur des exemples, je leur dédie ce travail en hommage de vive reconnaissance et en témoignage de tout mon amour filial.

A MA SŒUR

Avec l'expression de ma grande affection.

A MES FRÈRES

Avec l'expression de ma tendresse fraternelle.

A TOUTE MA FAMILLE ET A MES AMIS

En gage de ma reconnaissance et d'une amitié profonde et sincère.

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR A. SARTORY

DOYEN DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
PROFESSEUR DE BACTÉRIOLOGIE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ
DE STRASBOURG
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR

Expression de notre gratitude entière, admiration déférente et parfait dévouement.

A MES JUGES :

MONSIEUR VOLMAR

PROFESSEUR DE CHIMIE ORGANIQUE
DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

Témoignage de mon respect et de ma reconnaissance.

MONSIEUR CORDIER

PROFESSEUR DE PHARMACIE CHIMIQUE
DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

Hommage de profonde gratitude.

A MONSIEUR J. MEYER

Les sentiments de profonde gratitude pour l'aide précieuse qu'il m'a apportée dans le choix et les directives de ce travail.

A MADEMOISELLE FISCHER

Mes remerciements pour l'aide qu'elle m'a apportée.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543517_0061

I

INTRODUCTION

La conservation des matières alimentaires au-delà des limites tracées par leur fragilité naturelle ou par la production des saisons, a préoccupé de tout temps les consommateurs. Cette branche de l'économie domestique dût prendre une place importante à la campagne, puisqu'on y dispose à meilleur compte qu'ailleurs, des matières premières. Cependant, ce n'est plutôt qu'à titre exceptionnel que la fermière prépare pour l'hiver des conserves de légumes ou apprête des salaisons de porc, confectionne des pâtés de viande, met en réserve des œufs, du beurre, au moment de la grande production.

Aujourd'hui, l'outillage perfectionné et des méthodes efficaces, facilitent singulièrement les manipulations et assurent la parfaite stérilisation d'un produit de première qualité. Aucune femme, c'est certain, ne devrait ignorer la préparation des conserves alimentaires.

On ne doit pas oublier que les producteurs peuvent se grouper en coopératives. En ce qui concerne les coopératives agricoles il leur est impossible de fonctionner toute l'année en manipulant la viande en automne et en hiver, et les légumes et les fruits au printemps et en été.

Voici d'ailleurs, le titre des principales conserves :

1° *Légumes.* — Conservation sur pied par dessication, par procédé Appert, au vinaigre, en confitures : petits pois, haricots,

artichauts, asperges, tomates, choux (choucroute), champignons, truffes, cornichons, câpres, pommes de terre, betteraves, carottes, navets.

2° *Viande.* — Volaille, pâtés, tripes, langue, poitrine de bœuf et comme poissons : sardines.

3° *Fruits.* — Dattes, abricots, cerises, ananas, prunes, pommes.

Nous avons effectué ce travail à une période de guerre, en commençant justement au moment où la France a été obligée de vivre strictement sur ses propres ressources, où le rationnement des denrées alimentaires se faisait sentir avec toute sa vigueur.

Notre sujet de travail aurait été sensiblement plus intéressant et plus facilement réalisable, si nous avions pu compter, comme en temps de guerre active, sur les ressources de la production normale de campagne de l'intendance de l'armée française et alliée.

Qu'on nous excuse donc si nos recherches ne se sont pas étendues à la diversité des produits de conserves ci-dessus mentionnés. Que l'on n'oublie pas la difficulté que nous avons, à la suite des circonstances malheureuses, rencontré pour nous procurer les boîtes de conserves nécessaires à nos recherches. C'est pour ces raisons que nous avons dû nous limiter à l'examen des conserves de viande et notre intérêt a été tout particulièrement porté sur les conserves de « pâté de foie ».

Avant d'entrer en matière, nous tenons à adresser ici nos remerciements bien sincères à notre cher Maître, Monsieur le Professeur A. Sartory, doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg. Nous désirons lui exprimer ici notre reconnaissance très vive pour l'intérêt qu'il n'a cessé de nous témoigner pendant toute la période où nous avons eu le plaisir de vivre à cette Faculté de Pharmacie de Strasbourg, que nous avons connu en Alsace et que nous avons appris à estimer doublement en Auvergne.

Que Monsieur le Professeur Y. Volmar de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg et Monsieur le Professeur P. Cordier, qui ont bien voulu accepter de faire partie du jury de cette thèse, veuillent trouver ici la faible expression de notre gratitude.

Nous ne voudrions pas oublier d'exprimer notre inébranlable souvenir et espoir à celui de nos Maîtres de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg qui a témoigné, à tous les moments, à nous Egyptiens, sa grande sympathie et son entière compréhension. Sa grande compétence dans la matière que nous avons l'honneur de soumettre ici, nous aurait valu le plaisir de le voir figurer dans le jury de ma thèse, si des circonstances malheureuses ne le retenaient pas loin d'ici du chantier scientifique. Nous avons cité Monsieur le Professeur R. Sartory, pharmacien-capitaine, prisonnier de guerre.

II

HISTORIQUE

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE Ier

LA VALEUR ALIMENTAIRE DES CONSERVES

La valeur alimentaire des conserves est sans doute un sujet d'étude particulièrement important. En effet, elle représente un chapitre essentiel du problème général du transport, de la distribution et de la conservation de notre nourriture et intéresse, à ce titre, tous ceux qui s'occupent d'alimentation.

La conservation des matières alimentaires qui nous intéressent, au-delà des limites tracées par leur fragilité naturelle ou par la production des saisons, a préoccupé de tout temps les consommateurs.

Cette branche de l'économie domestique dût prendre une place importante à la campagne, puisqu'on y dispose, à meilleur compte qu'ailleurs, des matières premières. Cependant ce n'est plutôt qu'à titre exceptionnel que la fermière prépare pour l'hiver des conserves de légumes ou apprête des salaisons de porc, confectionne des pâtés de viande, met en réserve des œufs, du beurre, au moment de la grande production.

Aucune femme, c'est certain, ne devrait ignorer la préparation des conserves alimentaires. On ne doit pas oublier que les producteurs peuvent se grouper en coopératives.

En ce qui concerne les coopératives agricoles, il leur est possible de préparer des conserves toute l'année en manipulant la viande en automne et en hiver, et les légumes et les fruits au printemps et en été.

La préparation des conserves s'appuie, on le sait, sur le procédé Appert, qui consiste à enfermer les aliments dans des récipients hermétiquement clos et à les soumettre à l'action de la chaleur. On arrête ainsi l'action des deux principaux facteurs d'altération : les *micro-organismes* et les *enzymes*, et on place le produit à l'abri des influences extérieures.

H. Cheftel, le directeur du Laboratoire des Recherches des Etablissements J.-J. Carnaud et Forges de Basse-Indre, Paris,

a fait plusieurs expériences sur les cobayes ; il a constaté, que, comme le rat, le cobaye est sensible à l'absence des vitamines A, B^1, B^2, D et E, ainsi qu'aux déficiences de matières énergétiques ou plastiques, mais ne souffre pas d'une carence de vitamines C. Il a fait nourrir ces animaux avec un régime composé exclusivement de conserves fabriquées industriellement. Malgré quelques difficultés dûes à ce que le cobaye montre fort peu de sympathie pour les aliments cuits, et qu'il n'accepte qu'un nombre limité de légumes, il a obtenu quatre générations de ces animaux.

Un certain nombre de ces cobayes ainsi élevés aux conserves, ont été examinés, grâce à l'obligeance de MM. A. Giroud, Rakoto, Ratsimamanga et de Mme Rabinowitch, par la méthode au nitrate d'argent.

Il a enfin constaté que des cobayes nourris aux conserves pendant plusieurs générations donnent des réactions sensiblement identiques à celles de cobayes témoins nourris au régime cru habituellement utilisé dans les laboratoires.

L'ensemble des résultats de ces expériences montre que les légumes en conserves de même que les légumes cuits, renferment des quantités très appréciables de vitamine A.

Les gaz contenus dans les fruits et les légumes.

E.-F. Kohman, de Washington, après avoir fait ces expériences sur la présence de l'oxygène dans différents fruits et légumes et son comportement au cours de toutes les sortes de traitements qui peuvent être employés dans la fabrication des conserves, les a résumées dans la citation suivante :

« Le phénomène de respiration intense qui se produit dans les fruits et les légumes tend à diminuer la quantité d'oxygène dissous qu'ils contiennent et aussi à remplir les interstices intracellulaires par de l'azote qui est moins soluble. Nous avons fait des expériences sur certains autres fruits ; les gaz avaient une teneur en oxygène aussi importante que celle de l'atmosphère et le volume total des gaz dépassait le quart du volume des fruits. Nous avons constaté que les flageolets et les petits pois (graines entières), le maïs vert enlevé de l'épi (graines coupées), si on les recouvre d'un poids égal d'eau saturée d'oxygène atmosphérique à la température ordinaire, non seulement ne contiendront plus d'oxygène, mais auront aussi absorbé tout l'oxygène de l'eau au bout de deux heures.

Aucun essai n'a été fait pour des durées plus courtes. Cependant, il ne faut pas perdre de vue que cette respiration intense peut éventuellement donner naissance à un milieu plus actif, soit par une élévation du potentiel d'oxydo-réduction, soit par un phénomène analogue. S'il était démontré qu'il en est ainsi, cela suggèrerait la possibilité d'établir des conditions plus favorables pour la protection de la vitamine C, en faisant respirer les fruits pendant un certain temps dans une atmosphère d'azote. Une étude de cette question et de ses applications à la mise en conserve est envisagée. Les gaz contenus dans les fruits et les légumes pourraient être rapidement remplacés par un autre gaz en soumettant ces végétaux à l'action du vide et en remplaçant ce vide par le gaz voulu, mais la diffusion est très rapide en certains cas et l'exposition ultérieure à l'atmosphère doit être évitée. »

Des expériences faites par Kohman, Sanborn, Eddy et Guérin, 1934, pour faire nourrir des animaux sur des conserves.

Trois groupes de rats furent élevés pendant cinq générations, respectivement, avec des aliments crus et cuits, selon l'usage ménager et conservés sans addition de lait à la ration alimentaire et on constata les résultats suivants :

« 1° Les rats nourris aux aliments cuits selon l'usage ménager mais inférieurs aux rats nourris aux aliments crus, si l'on considère les poids des animaux à la naissance ou au sevrage, ou le nombre des petits par portées.

« 2° La mortalité avant le sevrage fut nettement plus élevée pour les animaux nourris avec des aliments crus, et légèrement plus élevés pour ceux nourris avec des aliments cuits selon l'usage ménager, que pour les autres nourris aux conserves.

« 3° Les animaux nourris avec des aliments crus avaient le caecum nettement plus dilaté que ceux nourris aux conserves. »

On peut donc conclure que les aliments préparés en conserves ont une valeur nutritive supérieure à celle des aliments cuits selon l'usage ménager habituel et que le risque d'infection par les conserves est diminué par rapport à celui dû aux aliments crus.

CHAPITRE II

LA LOI FEDERALE SUR L'INSPECTION DES VIANDES AUX ETATS-UNIS

La mise en conserve des viandes et des produits alimentaires carnés tombe sous la loi de l'inspection des viandes à laquelle il est nécessaire de consacrer une discussion, puisque son caractère di ffère de celui de la loi sur les produits alimentaires et médicaments. Les viandes et produits alimentaires carnés, mis en conserves pour la distribution et la vente à l'intérieur des frontières de l'Etat dans lequel ils sont fabriqués, échappent à cette juridiction. Cette remarque n'a d'ailleurs qu'un intérêt théorique, car ce ne serait guère une entreprise rémunératrice que de fabriquer des conserves pour un marché assez limité. Il existe aussi quelques autres exceptions de moindre importance. La loi sur l'inspection des viandes a été promulguée en 1906 et son application incombe au Ministre de l'Agriculture. Toutefois, cette application s'effectue par l'entremise du Bureau pour l'industrie animale. Depuis lors, cet Etat a dû promulguer la loi sur les viandes importées et la loi sur la viande de cheval dont l'application dépend ,elle aussi, du Ministre de l'Agriculture.

La loi sur l'inspection des viandes prévoit l'inspection étendue et effective de tous les établissements dans lesquels les bœufs, les vaches, veaux, moutons, porcs et chèvres sont abattus

en vue de leur expédition et de leur vente sous la forme d'articles commerciaux pour le trafic entre les Etats de Confédération ou pour le commerce extérieur, ou dans lesquels les corps de tels animaux ou des parties de ces corps sont mis en conserves ou traités de toute autre manière en vue de leur expédition et de leur vente sous forme d'articles destinés au commerce inter-Etats ou extérieur, à la condition que ces produits mis en conserves ou ayant subi tout autre traitement, soient propres à la consommation humaine.

L'inspection de tout bétail bovin, ovin, porcin et caprin, ainsi que celle de toutes viandes et produits carnes entrant dans un établissement contrôlé ou y subissant un traitement quelconque, est obligatoire.

Cette loi se distingue, en principe, de celle sur les produits alimentaires et médicaments par le fait que les normes pour la construction et l'équipement des établissements, pour les procédés qui y sont appliqués et pour l'inspection contrôlant toutes les pratiques industrielles, sont obligatoirement en concordance avec les règles édictées à cet effet par le Ministre de l'Agriculture. Ces règles sont formulées sous le titre « d'instructions du Bureau sur l'Industrie animale. »

Etant donné que le règlement se rapporte principalement à l'abatage du bétail bovin, ovin, porcin et caprin et à la préparation de produits alimentaires dérivés de ce bétail, et que d'autre part, les viandes et produits carnés en conserve ne représentent qu'une proportion relativement faible des animaux abattus, on comprendra qu'un petit nombre de règles seulement ait trait aux conserves seules. A noter que la volaille, pas plus que le poisson, ne tombe sous l'application de la loi sur l'Inspection des volailles et des viandes. Les règlements qui se rapportent aux méthodes d'abattage des animaux cités, prévoeint leur inspection « antemortem » et « postmortem ». Ces règlements décrivent les conditions dans lesquelles les animaux peuvent être abattus et dans lesquelles ils peuvent être utilisés comme aliment humain ; ainsi que celles dans lesquelles ils ne peuvent pas être utilisés comme tels.

Le Dr Meyer affirmait que pour éviter le botulisme causé par l'ingestion de conserves alimentaires, il faut adopter des méthodes de travail scientifiquement établies, et établir un contrôle rigoureux de la préparation et de la stérilisation des conserves. Les faits ont montré le bien-fondé de cette affir-

mation et on est heureux de constater que depuis l'application de la loi sur l'Inspection de conserves il n'y a eu aucun empoisonnement causé par des conserves préparées sous la surveillance des inspecteurs. Il n'est pas douteux que l'inspection rigoureuse et l'application stricte des règlements émis par le Service de l'Inspection de la Conserve, aient grandement contribué à cette amélioration. Il faut rendre hommage à M. Duffy et à ses fidèles inspecteurs, dont beaucoup sont en service depuis 1935, qui ont coopéré à l'application de la loi. L'examen de tous les produits, exigeant l'emploi d'autoclaves, par des inspecteurs qualifiés, permet d'exercer un double contrôle sur la fabrication des conserves, et les contrôles effectués par les Laboratoires de Recherches sont un facteur de sécurités supplémentaire. Il faut, en outre, constater que la collaboration des conserveurs, qui ont aidé à faire voter la loi et ses amendements, a énormément favorisé la réussite et le plein succès de cette organisation.

CHAPITRE III

LES CONSERVES EN ALLEMAGNE

En Allemagne, c'est à Nicolas Appert, qui par ses connaissances scientifiques, son intelligence et son habileté dans le domaine expérimental, a établi le principe de l'Industrie des conserves. Cet œuvre n'était cependant réalisable que grâce à Pasteur, qui a doté la science des plus éclatantes découvertes, permettant ainsi à l'industrie des conserves de se développer sur des bases vraiment scientifiques. La production des conserves de viandes en boîtes n'atteint pas celle des conserves de légumes et de poissons, mais la politique agraire de l'Office d'Alimentation qui tend à règlementer judicieusement le marché, a fait augmenter, pendant les six dernières années, la production des conserves de viande.

A la suite de ce développement, l'Allemagne s'est aussi préoccupé des problèmes scientifiques concernant la valeur alimentaire et les procédés de fabrication.

On sait que la consommation de la viande, sous toutes ses formes, est généralisée dans le monde entier, surtout chez les peuples nordiques, depuis fort longtemps. Le développement de la consommation des conserves de viande s'est heurté à moins de difficultés que celle des légumes et des poissons, mais le peuple allemand a toujours apprécié la valeur alimentaire de la viande ; il a été nécessaire d'éclairer les consommateurs sur la valeur des conserves de viande.

En ce qui concerne les vitamines, on peut se baser sur les travaux de SCHENNERT, il montre que les vitamines, en particulier la vitamine A, dans les conserves de viandes, ne sont pas altérées, ce qui était à prévoir d'après les processus de conservation. L'industrie des conserves de viande s'est efforcée, tout en maintenant intégrale la valeur alimentaire, de fabriquer des produits de qualité supérieure. A ce sujet, les travaux de GUSTSCHMIDT, sur les températures de stérilisation et la qualité des conserves de viande, sont particulièrement intéressants.

L'auteur conclut qu'une stérilisation de moins longue durée que celle employée généralement pour certaines conserves, à des températures élevées (2 atm.), ne nuit pas à la qualité des conserves de viande ; de plus, elle permet de gagner du temps au moment de la stérilisation.

Le Laboratoire de Recherches de l'ex-Association de l'Industrie allemande des viandes, a réalisé, de 1926, à 1933, des travaux remarquables sur les phénomènes chimico-physiologiques du salage et du fumage de la viande et du role des nitrates et des nitrites dans la conservation. Parmi ces travaux, ceux de BOURGET et de SCHWERDT, sont particulièrement importants. Le contrôle annuel des conserves de viande pratiqué autrefois par la Société Agricole allemande, aujourd'hui par l'Office national d'alimentation, donne un aperçu de la valeur de ces produits. A ce sujet, on tient à signaler les expériences rapportées par SCHWERDT dans différentes publications, concernant le jambon en boîte.

L'emploi du vide intéresse vivement l'industrie des viandes. Des études sont encore en cours pour apprécier la valeur de ces procédés.

Tout comme l'industrie des conserves de légumes, l'industrie des conserves de viandes a cherché à augmenter la valeur alimentaire de ses produits en renonçant à l'emploi d'antiseptiques comme l'acide benzoïque.

L'industrie allemande de conserve de viande.

En Allemagne, on ne peut guère parler d'une industrie spéciale des conserves de viande ; les fabriques de conserves de viande sont rassemblées dans le Groupe Professionnel des Industries de la Viande du Reich, parce qu'elles ne constituent qu'une production accessoire à d'autres produits de viande.

Ainsi les grandes fabriques de saucisses en boîtes ne se bornent-elles pas à fabriquer des conserves de viande ; elles produisent également des saucisses à cuire, des saucissons, etc... La part des conserves de viande dans le chiffre de vente total de l'industrie allemande des boîtes en fer-blanc est de 12 à 15 p. 100 environ. Le Groupe Professionnel a réuni ces fabriques dans une section dite « Des fabriques de Conserves de Viande ».

Toutes les mesures concernant la protection du consommateur de conserves de viande sont comprises dans les mesures générales pour l'industrie des produits de viande tout entière, et le plus souvent d'une manière qui, en principe, en assure l'application à tous les produits de viande. C'est ainsi que le Groupe Professionnel a établi, il y a quelques années, des « Conditions générales de vente pour les produits de viande ». Ces conditions traitent, en particulier, des commandes, de la livraison, du calcul des prix, du paiement, de l'entreposage, de la garantie, des réclamations, des conventions verbales, du lieu de livraison et du paiement, etc..., ces conditions s'appliquent lieu de livraison et du paiement, etc... Ces conditions s'appliquaient aux conserves de viande.

De même, le Groupe Professionnel a publié des « Directives pour le traitement des produits de viande » où se trouve un chapitre spécial aux traitements des conserves de viande.

Le « Décret sur la désignation des produits alimentaires », dont le principe avait déjà été établi en 1914-1919, mais qui reçut une autre rédaction sous forme de Règlements administratifs pour l'application de la loi sur les produits alimentaires en 1927 et surtout en 1935. Ce décret s'applique aussi, dans une large mesure, aux conserves de viande, c'est-à-dire aux articles de longue conservation constitués par de la viande ou avec addition de viande, en boîtes hermétiquement closes et stérilisées par la chaleur. Aux termes de ce décret, toutes les conserves de viande doivent porter l'indication de nom de la maison et du lieu de fabrication, l'indication du contenu, d'après la désignation habituelle du commerce et exprimé en mesure ou en poids au moment de la mise en boîte. L'industrie allemande des conserves de viande a toujours attaché le plus grand prix à ce que les indications présentes soient correctement apposées sur les boîtes.

Cette industrie a normalisé les boîtes pour saucisses, corned

beef, viandes en gelée, et les seaux pour salades de viande. Au lieu des 500 à 800 boîtes de types et dimensions diverses pour saucisses qui existaient auparavant, il y a aujourd'hui onze types seulement, pour les boîtes de corned beef et de viande en gelée, il n'y en a même plus que trois.

Les bases sur lesquelles repose la constance de la qualité des produits sont les suivantes :

1° Observation minutieuse des exigences de l'hygiène, dans toutes les opérations de la fabrication.

2° Surveillance constante des matières crues à travailler et à garder en magasin.

Une fabrique de conserves de viande doit, ne serait-ce que pour assurer son existence apporter la plus grande attention aux exigences de l'hygiène, en exerçant elle-même un contrôle strict sur ses fabrications, en plus du contrôle de l'Etat sur pied, par exemple.

Pour la fabrication de produits de viande, on n'admet, en Allemagne, aucun produit chimique de conservation. Dans la préparation industrielle des viandes, la loi du Reich sur l'inspection des viandes ne permet pas d'employer de produits ou de procédés susceptibles de rendre la viande dangereuse pour la santé. Il est également défendu d'importer de l'étranger des viandes ainsi préparées.

Parmi les substances interdites dans la préparation des viandes, on trouve aussi depuis 1935, l'acide benzoïque et ses composés et dérivés, de même que les phosphates et les sels d'aluminium. Le fait que l'armée a donné aujourd'hui à l'industrie privée la fermeture des boîtes de conserves, et qu'autrefois elle fabriquait elle-même, est un indice de la qualité des produits de cette industrie.

Un autre indice de la qualité des inspections favorables des conserves, est celui effectué par le « Reichnahrstand », chaque année à l'occasion des expositions, qu'il organise.

Enfin, on aurait douté des résultats satisfaisants obtenus par les travaux scientifiques allemands effectués en dehors de l'industrie des conserves. On ne peut signaler en Allemagne, depuis que l'industrie des conserves existe, — il y a cent ans bientôt, et plus de cinquante ans qu'elle a vraiment pris un développement industriel — qu'un seul cas d'empoisonnement

de *bolulisme* par les conserves. En 1913, l'Office d'hygiène a confirmé à l'industrie de la conserve qu'il ne connaissait pas de cas d'empoisonnement par les conserves. L'emploi de produits chimiques, de produits de blanchiement nuisibles à la santé et d'antiseptiques est interdite par la stricte réglementation de la normalisation. Dans des milliers de boîtes analysées, on n'a pas trouvé un seul cas d'infraction à ces lois.

Les mesures proposées pour améliorer la qualité en acidulant légèrement, ce qui permet de diminuer la durée de stérilisation des conserves n'ont pas donné de bons résultats. Au contraire, la faible acidité organique peut favoriser le développement de certaines bactéries acidifiantes particulièrement redoutées.

CHAPITRE IV

VALEUR NUTRITIVE DES CONSERVES DE GRANDE-BRETAGNE

L'industrie des conserves a fait de grands progrès en Grande-Bretagne au cours des dernières années et la consommation de fruits, de légumes, de poissons et de viande mis en conserves dans le pays, a beaucoup augmenté et, indépendamment de celle des produits similaires importés. Il n'est pas douteux que des travaux très intéressants ont été effectués à ce sujet aux Etats-Unis par KOHMAN et ses collaborateurs et en France par MACHEBŒUF, CHEFTEL et autres, mais on n'avait que fort peu de renseignements concernant des aliments mis en conserve en Grande-Bretagne. C'est pour remédier à cette lacune qu'un travail a été entrepris en collaboration avec la « Fruit and Vegetable Préservation Research Station of Campden ».

Le travail fut commencé en mars 1936 ; comme animal d'expérience de choix on prit le rat. On décida d'abord de travailler avec trois groupes d'animaux qui seraient nourris comme suit :

Groupe I. — Conserves égouttées.

Groupe II. — Conserves totales (partie solide et liquide).

Groupe III. — Aliments achetés dans un magasin ou cultivés sur place et cuits selon l'usage ménager, en rejetant le liquide de cuisson.

On constata que la nourriture du groupe II n'était pas satisfaisante en raison de la grande quantité de liquide qui rendait la ration trop encombrante. L'alimentation de ce groupe fut alors modifiée et les rats furent nourris alternativement suivant le régime des groupes I et III. Les expériences furent faites sur des rats « huppés » ; chaque groupe se composant au départ de dix femelles et de cinq mâles ; les animaux d'une même portée ayant été répartis entre les deux groupes. Les rats furent mis en expérience dès le sevrage, et on les accoupla à l'âge adulte. Sur leur progéniture une première génération, environ vingt femelles et vingt mâles furent dès le sevrage, placés au régime des parents et on dressa leurs courbes de croissance ; le reste des femelles, et un nombre approprié de mâles furent réservés pour la reproduction et nourris également au régime de leurs parents. De chaque couple initial, on ne conserva qu'une portée (première génération), mais on accoupla régulièrement les femelles de cette première génération. Elles donnèrent quatre portées (deuxième génération). Les rats de la première et de la quatrième servirent à établir les courbes de croissance et à assurer la reproduction. Les résultats obtenus à la fin de juillet 1937 sont indiqués ci-dessous.

Aliments employés :

Poitrine de bœuf,	Choux,
Langue,	Carottes,
Harengs,	Haricots nains,
Betteraves,	Haricots verts,
Choux de Bruxelles,	Petits pois,
Pommes de terre,	Prunes,
Epinards,	Tomates,
Navets,	Lait,
Pommes,	Pain,
Cerises.	Sirop.

Lorsque la saison le permettait, des aliments similaires furent achetés ou cultivés sur place, cuits et donnés au groupe III. A d'autres moments, des légumes de même nature remplacèrent ceux qui n'étaient pas de saison. On fit de même pour les fruits et le poisson. Sans entrer dans le détail des essais préliminaires qui permirent d'aboutir à des régimes appropriés, on peut dire que cinq menus furent finalement établis ; chacun d'eux comprenait du pain, du lait, des pommes de terre, de la viande et

du poisson, des légumes et des fruits. On changea de menu les deux jours ; l'ensemble des cinq menus était donc consommé en deux jours. Les animaux de chaque groupe étaient nourris *ad libitum* et on n'esssaya pas d'égaliser la consommation d'aliments de groupes I et III, bien que l'on tînt un tableau complet des quantités totales d'aliments ingérés pendant ces périodes. On peut faire remarquer que ce mode d'alimentation permit de donner au moins deux fois chaque menu pendant les périodes de gestation et d'allaitement. A partir du sevrage, chaque rat fut numéroté, et pesé toutes les semaines. Toutes les portées furent pesées à la naissance et on ne garda pas plus de huit rations dans chacune d'elles. Les femelles furent pesées immédiatement après la mise-bas et à la fin de l'allaitement. On peut comparer les effets des deux régimes par l'étude :

1° De la reproduction dans chaque groupe ;

2° De l'augmentation de poids des petits au cours de l'allaitement ;

3° Par les courbes de croissance des mâles et des femelles de chaque groupe.

Il faut remarquer que les chiffres donnés ne doivent pas entrer en ligne de compte, car pendant les deux premiers mois, on apporte de nombreux changements à l'alimentation des rats du groupe I jusqu'au moment où les cinq menus types furent arrêtés.

Le pourcentage de mortalité à la naissance présente peu de différence entre les deux groupes, mais le pourcentage de mortalité de l'allaitement est, d'une façon constante, plus élevé dans le groupe III que dans le groupe I. En considérant l'ensemble de ces observations, il est juste de dire qu'il n'y a pas de grande différence entre les deux groupes ; les petites différences qui existent sont pour la plupart en faveur du groupe I. On peut affirmer que l'emploi d'un régime composé uniquement de conserves n'a pas eu d'effets nuisibles ni sur la fécondation, ni sur l'allaitement des rats.

En résumé, il semble juste de dire, que les résultats ne montrent aucune différence bien définie, si l'on tient compte des observations pour la reproduction, l'allaitement et la croissance, entre les rats soumis à un régime composé uniquement de

conserves, et les rats nourris d'aliments cuits suivant l'usage ménager. Il est vrai cependant que les rats ne sont pas sensibles à une carence en vitamine C, et que les expériences ci-dessus ne peuvent mettre en évidence une telle déficience.

Teneur en vitamine C des conserves de fruits et de légumes.

Le point essentiel est que la destruction de vitamine C pendant la mise en conserve des fruits et des légumes est minime. Le magasinage des végétaux frais et la cuisson domestique peuvent provoquer une perte de vitamine C beaucoup plus grande que la mise en conserve. Une grande partie de la vitamine C contenue dans le tissu végétal est cependant absorbée par le liquide dans lequel il est conservé et, par conséquent on peut perdre une quantité appréciable de vitamine en jetant ce liquide.

Lors de la mise en conserve, la plus grande perte de vitamine C a lieu avant que la boîte ne soit fermée et une surveillance exercée avant la fermeture de la boîte assure la conservation du maximum de vitamine.

Des fruits et des légumes mis en conserve dans les conditions modernes de fabrication, sont précieux pour le régime de l'homme. Leur valeur en tant que sources de vitamine C est appréciable comme complément des fruits et légumes crus, lorsqu'il est possible de s'en procurer, ou comme remplacement lorsque l'approvisionnement en produits frais est limité. Le conseil de l'hygiéniste moderne pour le public peut être libellé comme suit : « Mangez beaucoup de fruits et de légumes frais ou conservés. »

L'influence de l'emballage métallique sur la valeur alimentaire des conserves.

L'emballage métallique le plus employé est la boîte de fer blanc ; mais depuis quelque temps, on utilise aussi la boîte d'aluminium. C'est surtout en Norvège que cette dernière s'est répandue rapidement.

Emballage en fer blanc.

Le produit mis en boîte se trouve en contact avec une couche d'étain presque uniforme. L'étain se montre très résistant vis à vis de certaines conserves. D'autres, au contraire, l'atta-

quent fortement, surtout lorsqu'on prolonge le stockage. Il en est ainsi pour les conserves de fruits renfermant de grandes quantités d'acides organiques, et pour certaines conserves de poissons à réaction presque neutre.

Une quantité d'étain plus ou moins forte, suivant la durée du stockage, passe ainsi dans le produit, sous forme de sel soluble ou insoluble. La quantité d'étain toléré dans les conserves est règlementée dans certains pays. En Norvège, par exemple, le maximum a été fixé à 400 Mgr. par kilo, alors qu'en Angleterre et dans ses colonies on ne tolère pas plus de 300 Mgr par kilo.

Cependant, malgré la tolérance plus large, on ne connait en Norvège aucun cas d'empoisonnement par l'étain provoqué par la consommation de conserves en boîtes de fer blanc. Ce problème a été étudié ; il a fallu opérer sur des animaux susceptibles d'ingérer des quantités appréciables de conserves ; on a choisi les rats omnivores, dont l'augmentation de poids est rapide en période de croissance.

On leur a donné des conserves de petits harengs à l'huile d'olive, renfermant environ 550 Mgr. d'étain par kilo. Chaque animal en recevait cinq grammes par jour, plus un complément de nourriture normale. La teneur en étain des excréments de chaque animal a été déterminé par la méthode spectrophotométrique. Des rats ont été tués à des intervalles de temps différents, incinérés, et, on a dosé l'étain dans les cendres. On n'a observé aucune assimilation d'étain, et les courbes de croissance ne diffèrent pas de celles des témoins. Ceux-ci étaient soumis à un régime normal. ou nourris avec des conserves fraîchement préparées en boîte de fer blanc. Les rats recevant de fortes doses d'étain ne présentaient aucun symptôme de maladie. Les organes des rats tués ont été soigneusement examinés. On n'a constaté aucune lésion, et les dosages n'ont révélé aucune accumulation d'étain.

On a signalé la présence de petites quantités de plomb dans certaines conserves en boîtes de fer blanc. Seuls les Etats-Unis ont fixé une limite maximum précise : 2,71 Mgr. par kilo, pour la teneur en plomb des conserves. L'International Tin Research and Developpment Council à Londres a aimablement procuré des échantillons d'étain fin, d'origines diverses, servant à fabriquer le fer blanc pour boîtes de conserves. On y a dosé le plomb et on n'a trouvé que de faibles traces (0,007 à 0,07 %).

Le fer blanc ne peut donc être la source du plomb dans les conserves. On a trouvé dans certaines conserves norvégiennes, 0,2 à 2 Mgr. de plomb par kilo. Une partie de ce plomb existe probablement à l'état naturel dans la matière première. C'est ainsi qu'on en a trouvé 0,1 à 0,2 Mgr. par kilo dans le brisling et le petit hareng, immédiatement à la sortie de l'eau.

On en a trouvé jusqu'à 0,6 Mgr. par kilo dans divers crustacés.

Les boîtes renfermant les produits examinés étaient des deux types les plus fréquemment utilisés en Norvège : le premier type, sans soudure, la boîte, d'une seule pièce, est emboutie et le couvercle est serti. Le deuxième type, un corps agrafé et soudé sur lequel sont sertis le fond et le couvercle.

L'emballage en aluminium.

Depuis quelques années, on emploie la boîte en aluminium pour les conserves alimentaires. Elle présente quelques avantages sur la boîte de fer blanc, pour certains produits, tels que : petits harengs, crustacés, filets de poissons en gelée, etc...

L'aluminium, comme le fer blanc, est attaqué par certaines conserves, avec dissolution de petites quantité de métal et formation d'une couche blanche et irrégulière à la surface intérieure de la boîte. Les quantités d'aluminium dissoutes en cours du stockage sont du même ordre de grandeur que les quantités d'étain trouvées dans les conserves en boîtes de fer blanc.

Dans la plupart des pays, on a reconnu que l'aluminium n'est pas nocif, et l'usage des instruments ménagers en aluminium s'est répandu partout. Il est intéressant de noter que l'aluminium est un constituant naturel de nos aliments. Dans certains produits même, on en trouve des quantités proches de celles renfermées par des conserves en boîtes d'aluminium, stockées depuis plus d'un an.

On a prétendu en Amérique que l'usage des ustensiles de ménage en aluminium a favorisé l'accroissement des cas de cancer. Des recherches ont été entreprises à ce sujet, tant en France qu'en Allemagne et aux Etats-Unis, sans que la question ait été résolue.

On a nourri des rats avec des conserves en boîtes d'aluminium, contenant de fortes quantités de ce métal, ainsi que nous

l'avions vu pour les conserves en boîtes de fer blanc. On a dosé l'aluminium dans les conserves et dans les excréments de chaque animal. On a choisi, pour ces essais, des brislings à l'huile d'olive, mis en boîtes depuis trois ans. Chaque rat recevait, par jour, 5 grammes de ces conserves, plus une quantité suffisante et pesée soigneusement, d'un régime normal, dont on avait déterminé la teneur en aluminium. On a ainsi calculé exactement la quantité d'aluminium ingéré. Elle était de 0,4 Mgr par jour. Après un certain temps, les rats ont été tués, incinérés et on a dosé l'aluminium dans les cendres.

On a trouvé, dans chaque animal, des quantités du même ordre, que la dose administrée quotidiennement, que ce fût au début ou à la fin des essais. L'expérience a duré cinquante jours. Ce qui prouverait l'inocuité de l'aluminium employé pour la préparation de denrées alimentaires.

CHAPITRE V

ETUDE SUR LA VALEUR ALIMENTAIRE DES CONSERVES DE NORVEGE

Influence de la stérilisation sur la valeur alimentaire des conserves.

On juge la valeur d'un aliment, d'après sa teneur en substances alimentaires : protides, lipides, glucides, sels minéraux (calcium, phosphore, fer, etc.) et vitamines. L'aspect, le goût, l'odeur et la consistance de l'aliment ont également une grande influence sur sa valeur.

Protides, Lipides, Glucides.

La stérilisation des conserves par la vapeur d'eau sous pression peut agir sur la valeur alimentaire des conserves. Nous savons déjà que la température à laquelle sont soumises les conserves pendant la stérilisation (135° maximum), ainsi que la durée de celle-ci, agissent pratiquement sur les protides, comme agit la cuisson ordinaire ; l'absence d'air, plus ou moins complète dans les boîtes de conserves, écarte le danger d'oxydation.

Pour la même raison, les lipides ne subiront aucune altération ; l'oxydation même des acides gras non saturés, est pratiquement négligeable.

En milieu acide, il peut y avoir hydrolyse des glucides, mais ils seraient ainsi rendus plus digestibles.

Sels minéraux.

S'il n'y a pas eu de perte au cours de la préparation avant la mise en boîte, la quantité de sels minéraux est la même dans la conserve et dans le produit frais.

Dans plusieurs cas, d'ailleurs, les sels minéraux des conserves se présentent sous une forme plus favorable à la digestion que ceux du produit frais. Il en est ainsi pour les sardines et pour les poissons qui sont consommés entièrement.

Les lipides sont également présents dans ces conserves en quantités notables, entre autres la lécithine (jusqu'à 1% dans les brislings).

Il faut encore signaler la présence importante de fer sous forme de combinaison organique. Le dosage du fer a été effectué dans des poissons frais ainsi que dans des conserves en boîtes d'aluminium, pour éviter tout apport pouvant provenir de la boîte de fer blanc. La teneur en iode de divers poissons a été contrôlée au cours de la fabrication des conserves : à l'arrivée à l'usine, pendant les différentes phases de la préparation, enfin, après la mise en boîte. On a trouvé entièrement dans le poisson conservé les quantités élevées d'iode qu'on avait trouvées dans le poisson frais.

CHAPITRE VI

RECHERCHES ITALIENNES RECENTES SUR LA VALEUR ALIMENTAIRE DES CONSERVES

C'est en 1922 que fut créée en Italie la « Station Royale Expérimentale pour l'Industrie des Conserves Alimentaires », dont le siège est à Parme, et qui a pour but l'étude scientifique et technique de tous les problèmes se rattachant à la conservation des denrées alimentaires.

Un Office de ce genre devait logiquement comporter une section biologique, exclusivement destinée aux problèmes de la biologie appliquée aux conserves, aux recherches sur les vitamines, à celles relatives à la stérilisation et à la valeur nutritive des produits conservés, enfin à l'étude de nouvelles méthodes de conservation répondant aux exigences modernes.

Les recherches auxquelles on se livre actuellement sur les vitamines peuvent pour ce qui nous intéresse, se diviser en trois catégories :

A) Recherches tendant à démontrer leur présence dans les principaux aliments ;

B) Recherches tendant à déterminer leur résistance en présence des différents agents physiques, notamment du fait des traitements industriels ;

C) Expériences tendant à améliorer les installations en vue de conserver au produit manufacturé toutes les caractéristiques d'arôme et de saveur de l'aliment original et sa valeur nutritive intégrale.

Le problème des vitamines dont la grande vogue de ces dernières années n'a pas été sans influer sur le volume de la consommation pour certains produits et sur le traitement industriel pour d'autres, a retenu l'attention de la « Station Royale Expérimentale pour l'Industrie des Conserves alimentaires », qui fut dotée d'un matériel moderne et varié en vue des expériences chimiques et biologiques à réaliser sur certains produits que ce problème concerne tout particulièrement (tomates et leurs produits dérivés en conserve et jus de fruit). Ces produits ont fait l'objet de recherches biologiques de la part de nombreux auteurs, notamment américains, et des volumes entiers ont été rédigés sur la matière. Les vitamines D, A, B et C ont été dosées sur la tomate (variété Pierrette originaire et acclimatée, Locale Grosse, Fundaina, Comet, Sunvise, Ladino di Pannocchia, récoltées dans la province de Parme), sur le jus de tomate et sur la tomate pelée (variété San Marzano).

Les vitamines D et A ont été étudiées sur les rats, la B sur les pigeons et la C sur les Cobayes.

Les résultats obtenus ont été exposés par R. Cultrera (Industria Italiana Conserve Alimentari, 1933, n° 3) et ont confirmé la présence dans la tomate d'une importante quantité de facteur antirachitique D et antixerophtalmique A et d'une grande quantité de facteur antiscorbutique C.

Le double concentré de tomates est riche en vitamines D et A, moyennement riche en vitamines B et très riche en vitamines C.

Les tomates pelées en conserve, préparées selon la méthode la meilleure, sont riches en facteurs D, A et C et possèdent des propriétés antinévritiques médiocres ; en d'autres termes, elles conservent presque intégralement les propriétés vitaminiques du fruit frais et seule la teneur en facteur antiscorbutique subit une légère diminution. Tomate fraîche, jus de tomate, tomate pelée en boîtes et le concentré de tomates, constituent de précieuses sources en vitamines, notamment en vitamines antiscorbutiques, antirachitiques, et antixerophtalmiques ; sources médiocres par contre en éléments antinévritiques insuffisantes à prévenir l'avitaminose.

D'autres recherches ont été effectuées en vue de déterminer quels sont les facteurs qui altèrent le plus facilement les propriétés vitaminiques des produits stérilisés.

En ce qui concerne la vitamine C, la plus intéressante pour les produits végétaux dont nous nous occupons, on connait sa sensibilité vis à vis de l'oxygène, en fonction de la température et la réaction du milieu, mais il convenait de préciser l'influence de certains facteurs physico-chimiques sur cette vitamine, notamment du point de vue des procédés industriels.

Pour les expériences nous nous sommes adressés aux jus de citron, d'orange et de tomate et les résultats prouvèrent (R. Cultrera Industria Italiana Conserve Alimentari, 1933, n° 1) :

1° Que la lumière de Wood détruit rapidement le facteur réducteur de Tillmans ; on en déduit que la lumière du soleil doit, elle aussi, en favoriser l'oxydation, quoique dans un temps beaucoup plus long.

2° Que ce facteur est facilement oxydé par l'eau oxygénée et n'est nullement réduit par l'hydrogène naissant ;

3° Que l'action de la chaleur :

a) A 60° c. en présence de l'air le détruit dans la proportion de 11 % après trois heures et de 36 % après cinq heures.

b) A 100° c. en présence de l'air, la perte est égale, après trois heures, à 17 %.

c) A 120° c. en autoclave, on constate une perte de 22 % après deux heures et de 47 % après quatre heures.

d) A 130° c. en autoclave, la perte est de 45 % après 2 heures et de 50 % après 4 heures.

4° La destruction du facteur réducteur par la chaleur est également fonction de la concentration en ions hydrogène du milieu : de pH = 1,4 jusqu'à pH = 5,2 la résistance à la chaleur est à peu près constante, entre pH = 6 et pH = 7 cette résistance est sensiblement diminuée : à pH = 7 l'oxydation est instantanée, même à la température ordinaire.

En ce qui concerne plus particulièrement les concentrés de tomate, on étudie actuellement les conditions d'installation et la meilleure technique de préparations aptes à leur conserver leurs caractéristiques de parfum, de couleur et de saveur, caractéristiques qui font la qualité de la tomate italienne.

On arrive aux conclusions suivantes :

1° Le facteur antiscorbutique du jus de citron est resté à peu près inchangé pendant un long laps de temps. Au cours des six premières semaines, on constate, en même temps qu'un développement de moisissures, une légère diminution de facteur C.

2° L'anhydride sulfureux additionné au jus de citron dans la proportion de 0,35 p. 1.000, a ramené la teneur en vitamines C à 1/12° après quatre-vingt-dix-huit jours et à 1/24e après cent quatre-vingt jours.

3° Le jus de citron additionné de saccharose à la dose de 60% et stabilisé par le procédé Matzka, a gardé presque sans changement sa teneur en facteur C.

4° Dans le jus de citron traité par le procédé Matzka et additionné de 5% de sucre de canne, le facteur antiscorbutique demeure également.

CHAPITRE VII

LES CONSERVES EN FRANCE

LA REGLEMENTATION FRANÇAISE DES CONSERVES

Règles relatives à la fabrication.

Le décret du 15 avril 1912 est le règlement qui contient, pour l'industrie des conserves, les dispositions d'ensemble auxquelles il y a lieu constamment de se référer.

Ce décret interdit d'employer dans la fabrication des denrées alimentaires des produits chimiques quelconques dont l'emploi n'ait pas été au préalable reconnu inoffensif.

A titre exceptionnel, il est permis :

1° D'additionner les viandes et préparations de viande, en vue de permettre leur conservation, du sel mélangé de 10% au maximum de nitrate de potasse commercialement pur ou de sel mélangé de bicarbonate de soude commercialement pur.

2° D'employer à la dose strictement indispensable l'acide sulfureux et les bisulfites alcalins purs pour la décoloration partielle des fruits et pour le blanchiement des champignons destinés à être conservés par stérilisation à chaud dans un liquide.

3° D'employer l'acide sulfureux pour la conservation des denrées à l'état sec, mais à la condition que celles-ci ne contiennent plus de 100 mgr. d'anhydride sulfureux pour 100 grammes au moment de la mise en vente.

Services d'analyses. Laboratoires.

Lorsque la préfecture du département où a eu lieu le prélèvement reçoit les échantillons et le procès-verbal qui lui ont été transmis par l'agent verbalisateur, elle l'enregistre, puis elle transmet au laboratoire compétent l'un des échantillons, en ayant soin de détacher la partie de l'étiquette qui porte le nom et l'adresse de la personne chez qui le produit a été prélevé. C'est une garantie d'impartialité, qui était déjà donnée par le décret du 31 juillet 1906. Le laboratoire se prononce sur un simple numéro d'ordre.

La plupart des produits sont envoyés par la préfecture intéressée à un laboratoire régional ; cependant quelques produits (conserves de viande notamment) sont analysés dans des laboratoires spéciaux dont le ressort n'est pas limité à une région déterminée. Le Laboratoire National des Services Vétérinaires d'Alfort est chargé exclusivement de l'analyse des échantillons de conserves de viandes, de poissons, prélevés en n'importe quel lieu du territoire français.

La France (d'après le premier Congrès International de la Conserve à Paris, 1937), dans ces trente dernières années, a eu le souci très vif de ne rien ménager pour offrir aux consommateurs toujours plus de garanties.

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES ANTERIEURES CONCERNANT LES BACTERIES THERMOPHILES

CHAPITRE Ier

Résumé historique de résultats obtenus par différents savants ayant examiné la flore thermophile en général

Dans cette partie de notre travail, nous avons réuni un certain nombre des principales recherches qui ont été effectuées avant nous, sur la flore bactérienne thermophile en général. Afin de permettre de donner un aperçu aussi objectif que possible et de moyen de comparaisons, nous citons les différents auteurs textuellement par ordre disonologique :

Léopold Nègre (1917) dans son travail : *Contribution à l'étude des microbes thermophiles. Etude biologique de la flore bactérienne thermophile du Sahara*, donne la définition et la description suivantes de ce groupe microbiologique :

Connaissances sur les Bactéries thermophiles.

1° *Définition.*

On désigne sous le nom de bactéries thermophiles les bactéries qui possèdent la propriété de vivre à des températures élevées.

En 1879, Miquel a découvert dans l'eau de la Seine le premier microbe thermophile : c'était un bacille immobile, possédant la propriété de vivre et de se développer à la température de 70° c. Plus tard, Van Tieghem isola un streptocoque et un bacille capables de vivre à 74° c. Depuis lors, de nombreux travaux ont montré que les bactéries thermophiles sont largement répandues (Globig, L. Rabinovitsch, Mac Faden et Blaxall, Karlinski, Gertes et Garrigou, Jeich, etc.).

Les bactéries thermophiles ne se distinguent des autres microbes que par les températures élevées auxquelles elles se laissent cultiver.

Les bactéries les plus communément répandues ont comme température optima 22-25° (Bactéries saprophytes de l'eau, de l'air et du sol). Leur température de culture maxima ne dépasse pas 40-42°.

Les Allemands donnent depuis Schillinger, le nom de Thermotolérants à ce groupe de microbes. Bardou propose de remplacer ce mot par celui de thermanecte, plus conforme aux lois qui président à la création des termes scientifiques.

2° Rapports des microbes thermophiles avec les microbes ordinaires.

Nous savons par de nombreuses observations que les bactéries thermophiles partagent la propriété de vivre à des températures élevées avec des êtres plus élevés en organisation.

Flourens a vu une algue vivante dans une source de 98°.

Brewer a trouvé dans un geyser à 83° des formes Nostoc, Cohn et Hansgirg des oscillariées dans des eaux à 60°. Pfeffer et Kerner, von Marilann des algues vivant entre 80 et 93°. Ehrenberg a observé des algues vertes et rouges dans les sources thermales de l'Ile d'Ischia à des températures de 63-65°. Il en a vu aussi chez des êtres vivants tels que des mollusques, des arthropodes et des vers. Sonnerat, Sallanzani, de Saussure, de Blainvile ont observé des faits de même nature. Il semble bien en résulter que les thermophiles ne sont que des microbes ordinaires, adaptés aux températures élevées. Certains peuvent vivre encore aux températures de culture des autres microbes ; d'autres bactéries ont une adaptation si complète à la vie aux hautes températures, qu'elles ne peuvent plus se laisser cultiver aux températures de culture habituelles des microbes ordinaires. On peut aussi faire l'hypothèse inverse

et supposer que les microbes ordinaires ont pour ancêtres des microbes thermophiles qui se sont adaptés graduellement aux basses températures.

Cette hypothèse s'accorderait mieux avec les notions que nous avons sur l'évolution du globe terrestre.

3° Isolement des bactéries thermophiles.

L'isolement des bactéries thermophiles se fait comme celui des microbes ordinaires par la méthode des plaques.

Les boîtes de Petri sont placées à l'étuve à 50°, 60°, 70° suivant les espèces que l'on veut étudier. On élimine ainsi les microbes ordinaires qui ne se développent pas à ces températures. Mais avec ce procédé, les résultats obtenus ne traduisent pas la véritable flore thermophile du milieu que l'on veut étudier.

Mlle Tsiklinsky a procédé d'une façon différente pour l'étude de la flore microbienne thermophile de l'intestin. Elle ensemence les matières fécales prises aseptiquement (avec 2-3 anses de platine par tube) dans des tubes contenant différents milieux nutritifs : gélose ordinaire, gélose glycérinée ou sucrée, bouillon ordinaire, lait, pomme de terre, sérum coagulé. Dès qu'on aperçoit une multiplication, on fait des plaques de gélose et des colonies obtenues on isole des cultures pures des microbes. Cette méthode a l'inconvénient de ne pas donner de renseignements sur la richesse des microbes thermophiles du milieu que l'on veut étudier.

Miquel indique la technique suivante qui a pour but d'éliminer les spores des microbes ordinaires : on place des matras de bouillon peptoné ordinaire dans un bain-marie réglé entre 65° et 70° et on introduit dans ces matras quelques centimètres cubes d'eau ou quelques parcelles de terre ou d'excréments. En moins de 24 heures, les microbes thermophiles produisent un trouble intense du bouillon.

4° Morphologie des Bactéries thermophiles.

La plupart des bactéries thermophiles, qui ont été étudiées jusqu'à présent, appartiennent aux genres Bacillus, Bacterium et Streptothrix. En outre, Van Tieghem a observé un streptocoque, Cohn un microcoque, Russel et Hastings un second microcoque.

A) *Formes Bacillus et Bacterium* :

Les formes Bacillus et Bacterium sont des bâtonnets mobiles ou immobiles, plus on moins longs, grêles ou trapus, le plus souvent associés en chaînettes de deux ou trois ou plusieurs éléments. Les bactéries thermophiles se laissent colorer comme les microbes ordinaires par les couleurs d'aniline. La plupart d'entre elles prennent le Gram, mais certaines sont colorées inégalement, à côté des bâtonnets fortement colorés, il y en a d'incolores. Ce fait s'observe même dans les cultures jeunes de 15 à 20 heures. Leur culture se fait dans les milieux usuels. (Le bouillon, la gélose à réaction neutre ou faiblement alcaline, la gélatine. le lait, la pomme de terre, le sérum coagulé).

Dans le bouillon, les bactéries strictement aérobies qui sont nombreuses parmi les thermophiles, poussent en voile à la surface du liquide.

La gélose présente l'inconvénient de ne pas pouvoir être employée au-dessus de 55° à 60°. Il faut alors la remplacer comme milieu solide soit par la pomme de terre, soit par le sérum coagulé.

La gélatine ne peut servir qu'à l'état liquide pour les thermophiles obligatoires.

Aérobiose. — Il est intéressant de noter les relations qui existent entre la vie aérobie et la thermobiose. Sans l'ériger en loi générale, on peut dire que dans un très nombre de cas, les bactéries thermophiles obligatoires sont aérobies obligatoires, les bactéries thermophiles facultatives sont aérobies facultatives.

Sporulation. — Certaines espèces de bactéries thermophiles ont, comme les microbes ordinaires, des spores, organes de résistance et de dissémination. Les spores peuvent être rondes ou ovales, médianes ou terminales. La bactérie qui leur donne naissance peut présenter un renflement au point de sporulation ou n'en pas montrer. Comme les spores des autres bactéries, elles résistent à un chauffage de 100°, pendant des temps plus ou moins longs.

Sames a étudié la résistance des spores qui se forment aux différentes températures de culture pour une même bactérie, et il a vu que les spores formées aux températures basses ont une résistance moindre que celles formées aux températures élevées.

B) *Streptothrix* :

Globig, Kedzior, de Pretti, Rossi, Doria, Bruini, Sames et Mlle Tsiklinski ont décrit des Streptothrix thermophiles.

Le groupe des Streptotricées comprend les bactéries se caractérisant par une vraie ramification, par la formation des spores à l'extrémité des filaments, et par l'absence d'organes spéciaux de fructification. Le genre streptothrix est discuté : les auteurs ne sont pas d'accord sur la désignation à donner aux organismes en question et sur la place qu'ils occupent dans le système microbien.

Cohn, ayant isolé un microbe à filaments rappelant le mycélium d'une mucédinée inférieure, renonça à le classer parmi les champignons et créa le groupe Streptotnrix.

Sauvageay, Radais et A. Sartory ont remplacé ce nom par celui d'*Oospora*. Toni et Trevisan par celui de *Nocardia* (en l'honneur de Nocard qui a découvert le microbe du farin du bœuf), Gasparini par celui d'*Actinomyces*.

Les caractères des Streptothrix thermophiles sont ceux des Streptothrix ordinaires, à part les conditions de température des cultures. Nous nous bornons donc à les mentionner, à côté des bacilles et des bactéries thermophiles.

CHAPITRE II

LA FLORE BACTERIENNE CONNUE DES CONSERVES

E. Morrisson et **Fred W. Tanner.** — Studies on thermophilie Bacteria. *Botanical Gazette.* LXXVII, 1924.

Les auteurs ont étudié quatre-vingt-neuf souches de bactéries thermophiles, en suivant les règles adoptées par la Société des Bactériologistes Américains pour la description des espèces. Ces quatre-vingt-neuf souches se répartissent en douze types qui se caractérisent par un certain nombre de particularités accessoires. Les auteurs concluent que les bactéries thermophiles semblent constituer un groupe homogène, dont les diverses formes sont réunies par des caractères essentiels communs.

Les auteurs montrent, en outre, que la faculté de croissance à de hautes températures paraît, en quelque sorte, une fonction relative dépendant des conditions d'incubation, des bactéries simples thermo-tolérantes.

Enfin, les auteurs étudient la résistance thermique des souches de bactéries thermiques isolées par eux : à hautes températures. 115° et 120° c., la mort est beaucoup plus rapide qu'à des températures inférieures à 100°, 105° et 110°. Les caractères des milieux influent beaucoup sur les caractéristiques thermiques des diverses espèces.

R. Veillon. — *Sur quelques microbes thermophiles strictement anaérobies.*

Si l'on consulte les travaux concernant l'étude des microbes thermophiles, on remarque que les nombreux microbes qui ont fait l'objet de ces travaux appartiennent, soit à des espèces aérobies strictes, soit à des espèces facultatives ; il n'en est pas décrit qui soient strictement anaérobies ; c'est-à-dire ne pouvant exister et se développer qu'en l'absence totale de toute trace d'oxygène. M. L. Nègre, Oprescu est cité comme ayant étudié des espèces obligatoirement anaérobies. A ce sujet, M. Nègre dit ceci :

« Il est intéressant de noter les relations qui existent entre la vie aérobie et la thermobiose. Sans l'ériger en loi générale, on peut dire que, dans un très grand nombre de cas les bactéries thermophiles obligatoires sont aérobies obligatoires, les bactéries thermophiles facultatives sont aérobies facultatives. Toutes les espèces décrites jusqu'à présent peuvent vivre en vie aérobie. Oprescu seul a décrit trois espèces qui sont obligatoirement anaérobies ».

En nous reportant aux travaux d'Oprescu, nous avons vu que ce savant décrit cinq espèces de thermophiles qu'il cultivait à 55°, et sur l'aérobiose desquels il fait, à la fin de son étude, la remarque suivante : « L'affirmation de L. Rabinowitch, que les thermophiles seraient facultativement anaérobie est incorrecte ; nous avons observé des espèces qui ne se développent pas du tout dans une atmosphère soigneusement débarrassée d'oxygène. On ne peut pas nier l'influence de l'oxygène sur la sporulation du bac. thermophile étudié au début. » L'auteur indique ensuite dans une série de tableaux la façon dont se comporte en présence d'hydrogène — ce qui revient à dire en l'absence d'oxygène — chacun des bacilles qu'il a étudié. Ces caractères d'aérobiose sont résumés dans le tableau suivant :

Croissance sous l'hydrogène

Bac. n° 1 Bacillus thermophilus liquefaciens aérophilus	Croissance sans formation de spores. Dans la culture elle est capable de se développer sous l'hydrogène, mais beaucoup plus lentement et pas aussi abondamment qu'en présence d'oxygène.

Bac. n° 2 Bacillus thermophilus aerobius	Aucune croissance.
Bac. n° 3 Bacillus thermophilus aquatilis	Aucune croissance.
Bac. n° 4 Bacillus thermophilus reducens	Aucune croissance sur la gélose glucosée.
Bac. n° 5 Bacillus thermophilus liquefaciens tyrogenus	Croit aussi sous l'hydrogène, la formation des spores n'est pas influencée.

L'examen de ce tableau amène à conclure que les bacilles 2, 3, 4 sont des aérobies stricts, et les bacilles 1, 5 des facultatifs. D'ailleurs, la méthode d'isolement qu'employait Oprescu lui aurait difficilement permis d'isoler des anaérobies stricts. Voici ce qu'il dit à ce propos :

« Pour l'isolement des espèces particulières, nous avons suivi une méthode qui est très employée dans notre Institut d'hygiène. Il s'agit d'obtenir d'abord un enrichissement des germes. Dans ce but, nous portions le matériel d'ensemencement dans un tube de bouillon qui était placé vingt-quatre heures dans une étuve réglée à 55°. Puis les cultures étaient versées à diverses dilutions dans des boîtes de Petri et l'isolement était continué par des ensemencements répétés sur de la gélose inclinée à 2 p. 100. ».

C'est bien là un procédé classique d'isolement des aérobies ou des facultatifs, et non des anaérobies. En résumé, de tout ce qui précède, il résulte que la question de l'existence des microbes thermophiles anaérobies stricts nous a paru être restée entière ou seulement effleurée. C'est pourquoi nous avons voulu voir s'il était possible d'en isoler et étudier quelques espèces en employant les procédés modernes d'isolement et de culture des anaérobies stricts.

TECHNIQUE EMPLOYÉE

Isolement.

Pour isoler les microbes qui nous intéressaient, nous avons employé la technique suivante, seule d'un emploi pratique pour l'isolement et la culture des anaérobies. Elle repose sur le principe des cultures en couche profonde dans un milieu solide débarrassé d'oxygène par l'action permanente d'un corps réducteur qui lui est incorporé. Pour faire l'isolement, nous faisions fondre au bain-marie à 100°, pendant dix à quinze minutes, une dizaine de tubes de gélose glucosée en couche profonde, que nous placions ensuite dans de l'eau à 38°, ce qui permet au milieu de rester en surfusion, donc encore fluide pendant toute la durée de l'ensemencement. Puis, à l'aide d'une pipette flambée à longue effilure, nous portions dans un premier tube un peu du matériel à ensemencer (dans le cas particulier ce fut soit des fragments de fumier, soit quelques gouttes de purin), que nous délayions le plus parfaitement possible par agitation prolongée dans toute la longueur du tube, de façon à faciliter la dissémination des germes ; et sans la recharger, toujours en l'agitant, mais moins longtemps, nous transportions successivement la même pipette dans les autres tubes. Ceux-ci étaient alors plongés dans l'eau froide pour solidifier rapidement la gélose, cherchant à isoler des espèces thermophiles, nous placions les tubes dans l'eau d'un bain-marie (bien préférable à l'étuve à air chaud quand il s'agit d'obtenir une température élevée et constante) dont nous fixâmes la température d'abord à 50° et par la suite élevâmes jusqu'à 55° et 58°. Dans ces conditions ne pouvaient subsister que des microbes ou des formes de résistance (spores) de microbes qui, tout en ne se développant qu'à 50° pouvaient néanmoins résister plus ou moins longtemps à cette température et rester susceptibles de reprendre leur développement normal quand on les replacerait à leur température optimum. Ne pouvaient se développer, en donnant naissance à des colonies visibles à l'œil nu, que des microbes nettement thermophiles, ou tout au moins thermotolérants.

Culture et conservation des espèces.

Pour entretenir ces espèces, nous les repiquions en gélose glucosée profonde et nous avons toujours fait deux séries parallèles, une à 55° et l'autre à 37°.

Culture en milieux liquides.

Dans le cas de petites quantités de liquide, 15 à 20 cent. cubes pour lesquelles le tube à essai est suffisant nous avons employé le dispositif indiqué par Roux. Pour des quantités plus importantes, 250 à 300 cent. cubes, nous utilisions l'appareil très pratique imaginé par M. Mazé et qui consiste en un matras de verre d'un litre de capacité environ, à l'épreuve de l'autoclave et de la pression, terminé par un long col dont l'orifice est muni d'une fermeture sous le mercure absolument étanche et qui constitue l'originalité du système. Grâce à ce dispositif, on peut prélever sans contamination du milieu, sans arrêter la culture et à n'importe quel moment, les gaz que l'on veut analyser. Pour les tubes comme pour les matras, les mêmes manipulations étaient nécessaires, c'est-à-dire : ensemencement, ébullition dans le vide, rinçages au gaz d'éclairage et fermeture en scellant sur le vide.

Culture en gélatine.

Pour observer l'action liquéfiante sur la gélatine, on utilisait des tubes de gélatine glucosée que l'on ensemençait largement après fusion et que l'on faisait prendre par refroidissement. A la surface de la gélatine solidifiée on coulait de la gélose glucosée sur 2 à 3 centimètres d'épaisseur de manière à former, après solidification un bouchon protégeant la gélatine de l'action de l'oxygène de l'air, et l'on versait sur ce bouchon de gélose un peu d'huile d'olive stérile pour éviter la dessication. Les tubes étaient placés à la température nécessaire, et après quelque temps, on regardait si a gélatine faisait prise comme au début quand on la refroidissait. Si la gélatine restait liquide, c'est que le microbe avait sur elle un pouvoir liquéfiant.

Résultats obtenus.

Nous avons fait trois isolements à 50°, en gélose glucosée profonde et en suivant la technique précédemment décrite. Comme matériel d'ensemencement, nous avons pris, dans un cas du purin et, dans deux autres, du fumier de ferme. Après quarante-huit heures à 50°, deux colonies apparurent dans la zone anaérobie des tubes ensemencées avec le purin : l'une était une colonie nuageuse produite par un bacille anaérobie qui avait donc résisté et pu se développer pendant un certain temps, mais qui périt sous l'action prolongée de la chaleur

car repiqué dans un tube profond neuf, placé à 50°, il ne put s'y développer de nouveau ; l'autre colonie était petite, ronde et produite par un autre bacille anaérobie que l'action prolongée de la chaleur n'incommoda pas, car repiqué dans un tube neuf placé à 50° il s'y développa à nouveau.

Dans un des tubes ensemencés avec du fumier apparurent, après quarante-huit heures environ, à 50° et toujours dans la zone anaérobie, deux colonies rondes, une grosse et une petite, produites par des bacilles différents. Chacune de ces colonies repiquée dans des tubes neufs placés à 50° continua à croître à cette température. Ces trois bacilles vivant à 50° n'étaient pas des facultatifs, car ils ne se développèrent jamais dans la zone supérieure aérée de la gélose qui dissout l'oxygène de l'air sur une épaisseur d'environ 1 à 2 centimètres. D'ailleurs, ils ne poussèrent jamais sur aucun autre milieu aéré.

Nous avions donc isolé trois espèces différentes de microbes anaérobies stricts et thermophiles.

Conditions de culture.

Aérobiose : Les cultures sont des anaérobies stricts, la façon dont ils ont été isolés et dont ils cultivent le prouvent nettement.

Action de la température : A la température ordinaire du laboratoire qui variait entre 18, 20 et 22°, les cultures ont une croissance extrêmement lente, presque nulle, même après deux ou trois mois. C'est à cette température que nous laissions les souches pour les conserver. A 37°, ils cultivent très bien en donnant des colonies beaucoup plus nombreuses qu'à 55°, mais moins volumineuses. Suivant la qualité de la gélose employée les colonies apparaissent après un temps variable, souvent en moins de douze heures et habituellement en vingt-quatre heures. A 50°, ils croissent également bien, c'est à cette température que nous les avons isolés. A 55°, les cultures sont aussi bonnes qu'à 50°. A cette température de 55° et quand la gélose est bien préparée et favorable les cultures croissent très vite : plusieurs fois les colonies atteignirent des dimensions volumineuses et définitives en moins de douze heures ; habituellement, avec une gélose de qualité moyenne, il leur faut de vingt-quatre à quarante-huit heures. A 55°, les colonies sont toujours plus volumineuses qu'à 37°, probablement parce

que, à cette température, la gélose est plus près de son point de fusion qu'à 37° et se laisse aussi plus facilement pénétrer.

Température mortelle : Ils ne se développent plus et meurent aux environs de 58° .

DESCRIPTION DES MICROBES

Thermo α

Aspect microscopique : Gros bacille, plutôt très allongé à formes nettes, extrémités carrées dans les cultures à 37° ; formes, quelquefois incurvées, souvent grêles et très allongées dans les cultures à 55°. A cette température, les extrémités du bacille sont peu nettes et prennent un aspect pointu. Les bacilles de l'espèce se groupent rarement, et quand cela se produit ils forment des chaînettes plus ou moins contournées comprenant jusqu'à dix éléments. Dans les premières semaines qui suivirent son isolement, ce bacille présentait une spore terminale qui résistait à un chauffage de 80° pendant trente minutes. Dans la suite de son existence *in vitro*, il perdit la faculté de donner des spores bien que conservant rigoureusement toutes ses autres propriétés.

Mobilité : Th. α est immobile à 37° et 55°.

Coloration : se colore bien par les couleurs d'aniline quand il a été cultivé à 37°, mais moins quand il provient des cultures à 55°. Il ne prend pas le Gram.

Caractères des cultures : Dans le bouillon ordinaire, dans le vide, α pousse aussi bien à 37° qu'à 55° en produisant en vingt-quatre ou quarante-huit heures un trouble abondant ; la culture finit par se rassembler au fond des tubes et le bouillon redevient limpide, il y a production abondante de gaz. Dans la gélatine glucosée profonde, α pousse bien à 37°. On ne peut voir l'aspect des colonies, car il liquéfie la gélatine. Dans la gélose glucosée, il donne des colonies à 37° et 55° en vingt-quatre ou quarante-huit heures, selon la qualité de la gélose employée. Les colonies sont rondes, punctiformes, qaund on ensemence largement et qu'elles sont serrées, mais toujours sphériques, nébuleuses et volumineuses à 55° présentant l'aspect de houppes dont les

éléments partent du centre vers la périphérie. Les gaz produits ne gênent pas trop et sont presque totalement absorbés dans la gélose glucosée additionnée de 1 p. 1.000 de nitrate de potassium.

A 37°, il coagule le lait en solubilisant nettement la caséine (trois jours environ). A 55°, il coagule plus vite le lait, mais en solubilisant beaucoup moins la caséine. A 37°, Th α solubilise complètement dans le vide un cube d'albumine d'œuf coagulée introduit dans un tube de bouillon ordinaire, à 55° il solubilise également l'albumine, mais moins complètement qu'à 37°. A 37°, et 55°, il n'agit pas sur la cellulose introduite dans du bouillon ordinaire sous forme de fragments de paille ou de papier Berzélius.

Thermo β

Aspect microscopique : Bacille généralement assez allongé, plutôt grêle et très délié, parfois incurvé, à extrémités souvent peu nettes, aussi bien à 37° qu'à 55° se présentant assez souvent sous l'aspect de diplobacille et formant parfois de petites chaînettes plus ou moins incurvées, presque circulaires ne comportant pas plus de trois, cinq ou six éléments. Ne donne pas de formes filamenteuses dans les vieilles cultures ; ne donne pas de spores.

Mobilité : Th β est immobile.

Coloration : Se colore bien par les couleurs d'aniline quand il a été cultivé à 37°, mais moins bien quand il a été cultivé à 55°, ne prend pas le Gram.

Caractères des cultures : Dans le bouillon ordinaire, dans le vide, pousse aussi bien à 37° qu'à 55°, en vingt-quatre ou quarante-huit heures en produisant des gaz et un trouble qui disparaît quand la culture est tombée au fond des tubes. Ne liquéfie pas la gélatine glucosée profonde, dans laquelle il croît en donnant de petites punctiformes. En gélose glucosée profonde, pousse bien à 37° et 55° en donnant des petites colonies sphériques punctiformes à 37° ; beaucoup plus volumineuses et en forme de houppes à 55°. Il y a production de gaz qui sont presque entièrement absorbés par le milieu nitraté. Il coagule le lait à 37° en solubilisant la caséine ; à 55°. il le coagule également et solubilise davantage de caséine le milieu se colore

en se caramélisant légèrement. A 37° et 55° il est sans action sur l'albumine et la cellulose.

Thermo γ

Aspect microscopique : Petit bacille grêle et court, plus petit que le précédent, se présentant très souvent sous l'aspect de diplobacilles, se groupant en petites chaînettes droites ou plus ou moins incurvées, comprenant de trois à six éléments, prend parfois des formes coccobacillaires associées par deux et formant elles-mêmes de petites chaînettes de diplococcobacilles, il se présente parfois sous la forme de grands éléments filamenteux et flexueux plus ou moins enchevêtrés ; dans les cultures à 55°, il donne des formes à extrémités fuyantes et peu nettes ; ne donne pas de spores.

Mobilité : Th. γ est immobile à 37° et 55°.

Coloration : Se colore bien par les couleurs d'aniline quand il a été cultivé à 37°, mal quand il l'a été à 55°. Ne prend pas le Gram.

Caractère des cultures : Dans le bouillon ordinaire, dans le vide, Th. γ pousse bien à 37° et 55° en troublant le milieu et donnant des gaz. Le milieu s'éclaircit quand la culture tombe au fond. Il ne liquéfie pas la gélatine glucosée profonde dans laquelle il pousse bien en donnant des colonnes punctiformes. Dans la gélose glucosée profonde, il pousse bien à 37° et 55°, en donnant des gaz. Les colonnes sont petites, rondes et punctiformes à 37°, volumineuses sphériques et en houppes à 55°. Il coagule le lait à 37° et 55° en solubilisant plus de caséine à 55° qu'à 37°. Il est sans action sur l'albumine et la cellulose à 37° et 55°.

Action de α, β et γ sur les sucres.

Pour étudier correctement cette cation, nous avons employé la technique suivante :

Dans les tubes moyens de 18x18, nous placions 0 gr. 3 exactement pesés de carbonate de chaux chimiquement pur, dans le but de saturer au fur et à mesure de leur production les acides provenant de la fermentation des sucres ; nous ajoutions

0 gr. 2 exactement pesés de sucre étudié et 10 cent. cubes exactement mesurés de bouillon Martin. Pour les témoins, nous préparions des tubes semblables mais sans sucre. Tous ces tubes étaient stérilisés par un chauffage à 110° pendant trente minutes. Pour l'étude de l'action de chaque bacille et à chaque température, nous préparions un tube témoin et deux tubes d'un même sucre. Dans quelques tubes supplémentaires, nous dosions le sucre et le carbonate de chaux qui restaient réellement après la stérilisation, car nous avons observé qu'après cette opération les quantités étaient différentes de celles introduites primitivement. Le bouillon Martin avait lui-même un pouvoir réducteur dont nous tenions compte. Pour les résultats, nous prenions la moyenne des deux tubes à sucre.

Au moment de l'emploi, on chauffait les tubes pendant quelques minutes à 110° pour chasser la majeure partie de l'air dissous, on les refroidissait rapidement sans les agiter, on ensemençait largement avec, autant que possible, une même quantité de semence, et après ébullition dans le vide et rinçage au gaz d'éclairage, on scellait sur le vide.

Nous laissions agir les bacilles pendant des temps qui furent variables et parfois très longs, entre vingt-quatre jours et plusieurs mois suivant les cas, ayant constaté qu'ils étaient encore vivants après vingt-six jours à 37° et vingt-sept jours à 55°. Après quoi, nous ouvrions les tubes, puis les chauffions à 110° pendant trente minutes, de manière à tuer les bacilles et pour faciliter la saturation du carbonate de calcium par les acides formés ; il ne restait plus qu'à doser par la méthode précise indiquée par Bertrand, les quantités restantes de sucres non transformés. Les différences avec les quantités qui existaient avant l'ensemencement correspondaient aux quantités disparues.

On évaluait les quantités d'acides formés en dosant le carbonate de calcium qui restait dans les tubes. Les différences avec les quantités existant avant l'ensemencement donnaient les quantités saturées par les acides formés aux dépens des sucres.

Résultats obtenus : En résumé, les thermophiles α, β et γ font fermenter à 37° et 55° des sucres simples comme le glucose, le lévulose et le galactose, et des disaccharides comme le saccharose le lactose et le maltose en donnant des quantités d'acides sensiblement proportionnelles d'une façon générale, aux quantités de sucres disparues.

A 37°, la proportion de sucre simple disparu varie de 27 à 100 p. 100, avec une acidité totale, évaluée en acide acétique allant de 12 à 44,5 p. 100 du sucre primitif ; la proportion de dissaccharide disparue varie de 7,4 à 100 p. 100. avec une acidité totale allant de 0 à 38,8 p. 100 du sucre primitif.

A 55°, la proportion de sucre simple disparu varie de 8,3 à 46 p. 100 avec une acidité totale, évaluée en acide acétique allant de 5,2 à 13,5 p. 100 de sucre primitif ; la proportion de disaccharide disparue varie de 9,8 à 56,4 p. 100 avec une acidité totale allant de 1,6 à 19,4 p. 100 du sucre primitif.

Nature des produits obtenus dans l'action de α, β et γ sur le glucose

Afin de pouvoir caractériser ces produits avec quelque certitude, il était nécessaire d'opérer sur de plus grandes quantités que celles contenues dans des tubes. Le milieu suivant fut préparé :

Bouillon ordinaire non salé.....	200 cent. cubes
Glucose pur.....	4 gr.
Co^3Ca pur.....	léger excès.

placé dans les ballons à fermeture sous le mercure précédemment décrits, stérilisé, ensemencé, privé d'air et placé dans une chambre étuve à 21° pendant plusieurs mois (7). Après ce séjour les ballons furent ouverts ; avec α on eut une forte pression due aux gaz produits, une légère pression avec β, et aucune pression avec γ.

Le liquide de fermentation fut additionné d'un léger excès de soude pour être certain de bien retenir tous les acides produits et distillés à sec dans le vide. Dans les produits volatils on pouvait retrouver les alcools, ils furent analysés à part ; le résidu sec fut additionné d'un peu d'eau et d'acide sulfurique pour mettre en liberté les acides volatils séparés, ensuite par distillation dans le vide et caractérisés par la méthode de Duclaux. Les autres corps furent identifiés par leurs réactions chimiques classiques.

Les thermophiles α, β et γ sont-ils pathogènes ?

Trois cobayes furent respectivement injectés sous la peau avec 2 cent. cubes de cultures en gélose glucosée des différents thermophiles : l'injection du thermo α provoqua après trente-six heures un abcès banal qui suppura, puis guérit spontanément : celle du Th. β ne produisit rien, pas même d'abcès ; celle du Th. γ provoqua un petit abcès qui suppura et guérit spontanément comme dans le cas de α et les trois cobayes restèrent en bonne santé. Donc α, β et γ ne sont pas sensiblement pathogènes.

CONCLUSIONS

Il existe des microbes thermophiles ou plus exactement thermotolérants strictement anaérobies. On en a trouvé dans des fumiers de diverses provenances : c'étaient des bacilles correspondant à trois espèces différentes dont une seule était sporogène. Tous les trois peuvent se développer entre 20° et 58°. Tous les trois coagulent le lait en digérant plus ou moins la caséine. L'espèce α digère l'albumine cuite.

Tous font fermenter les sucres en donnant des acides volatils (acétique, propionique, butyrique) et des gaz (acide carbonique, hydrigène sulfuré, ammoniac) certains donnent des amines. Ils ne sont pas pathogènes.

L'action destructive de ces microbes sur les matières organiques est intéressante parce qu'elle peut se faire jusqu'à 58°, température que nous savons pouvoir exister fréquemment dans les fumiers en fermentation.

L. Rosenthal. — Sur les lysobactéries thermophiles, 1926. *C.R. Soc. Biol.*, XCIII, 12 décembre 1925, p. 156 g.

Rosenthal a déjà fait connaître que les tyrothrix de Duclaux sont des lysobactéries. Les bactéries lysantes sont fréquentes dans la flore bactérienne thermophile. On isole souvent dans des cultures à 55° de la terre et de matières fécales divers microbes qui paraissent appartenir au groupe de b. mesentericus et dont le pouvoir bactériolytique est très marqué. Une parcelle du voile qu'ils forment sur le bouillon clarifié, en 48-72 heures à l'étuve à 55°, tue une culture de B. d'Eberth, de Staphylocoque, de Vibrion cholérique ou même d'une autre bactérie thermophile. En culture sur gélose, leurs colonies s'entourent d'une

zone dénudée dans une culture massive d'un microbe qui résiste à 55°. On peut aussi incorporer à la gélose une émulsion bactérienne épaisse qui la trouble, puis la clarifie en ensemençant à la surface le B. mesentericus thermophile. Son action lytique est plus faible que celle du Tyrothrix scaber. C'est un thermophile facultatif qui croit à 37°, mais son pouvoir lytique est alors moindre. Le Tyrothrix scaber, au contraire, peut se cultiver en milieu liquide à 55°, mais moins bien qu'à 37° ; il garde d'ailleurs à 55° son pouvoir lytique.

Les Bactéries thermophiles dans les conserves

Une bactérie thermophile a été connue en 1879 par Miquel, qui a trouvé la première espèce de ce groupe. Elle a été isolée de l'eau, terre, lait, l'intestin de l'homme, des animaux et des conserves. Ce microbe est capable de produire des spores qui lui permettent de résister à la chaleur et contre la dessication, et associe par la production du « Flat Sours ».

Les thermophiles isolés par les essais de Weinzir, constituaient un petit pourcentage du grand nombre d'organismes actuellement connus.

Savage a trouvé des thermophiles qu'il a considéré comme un groupe important. Il a remarqué, pour la première fois, les propriétés de fermentation de ces êtres. Les expériences faites par l'inoculation directe n'ont pas réussi pour démontrer l'action protéolytique de ces germes.

Barlow (1913) et Donk (1920), ont trouvé des thermophiles dans des conserves. L'organisme de Barlow diffère des autres par la formation des spores.

Cameron et Esty (1926), ont étudié les bactéries isolées des boîtes abîmées. Ils ont trouvé deux grands groupes thermophiles : les thermophiles facultatifs et les thermophiles obligatoires. Les thermophiles obligatoires ont poussé à 55°, et ne donnent pas de culture à + 37°.

Prélèvement des boites de conserve et isolement des bactéries

Les ensemencements sont effectués sur plaques de gélatine et sur plaques de gélose.

Les plaques de gélatine étaient placées par L. Nègre à l'étuve à 22° et celles de gélose à 37°.

Tous les germes ainsi isolés étaient repiqués en gélose inclinée et placés à l'étuve à 37°. Les cultures positives après un ou deux passages à 37° étaient repiqués et placés à 45° pour se rendre tout de suite compte si le germe en question était thermophile. La température de culture maxima était ensuite déterminée.

La plupart de ces microbes, comme nous allons le voir, sont plutôt thermotolérants que thermophiles. Ils poussent tous à 22° et à 37°.

Nous avons toujours fait, en même temps que les isolements en plaques de gélatine et de gélose, des ensemencements directs à 40°, 45° et 50° en gélose et en bouillon et à 60° en bouillon. Ce procédé nous a permis dans certains cas d'obtenir d'emblée à ces températures la culture d'un thermotolérant.

Quand les cultures provenant de ces ensemencements directs, sont positives, on isole par la méthode des plaques à 37°, les germes qui ont poussé.

Sources des matériels et méthodes employées.

Cameron et Esty ont isolé un organisme par l'examen de 65 boîtes de conserves alimentaires (normales et abimées).

Les boîtes normales ont été obtenues dans les magasins ou dans le « Laboratory of the State Deary and Food Commission for examination », ceci surtout pour les boîtes contaminées.

Les normales ont été mises dans l'étuve à 55° pendant quatre à sept jours avant la culture. Les abîmées ont été examinées, soit directement, soit après un étuvage plus court. Pour effectuer les prélèvements, la surface des boîtes a été nettoyée par l'alcool flambé et couverte par du coton stérile alcoolisé. Un trou a été fait par un clou bien stérilisé, et avec une pipette stérilisée on a prélevé un peu du contenu de la boîte et l'ensemencement a été fait sur différents milieux en aérobie et anaérobie.

On a noté les propriétés physiques suivantes : odeur et le pH. Les examens microscopiques ont été faits après coloration par la méthode de Gram et simple coloration sur plusieurs frottis.

Les mieux utilisés ont été préparés selon les prescriptions de « The Society of the American Bactériologistes », et les bactéries

isolées ont été étudiées en cultures pures. Le bouillon de bœuf a été utilisé à la place d'extrait de bœuf. Pour l'étude de la fermentation glucidique, le bouillon de bœuf a été fermenté au préalable par le colibacille ; le pH a été 7,2. Une solution aqueuse saturée de lisomocresol a été additionnée (2 cc. par litre). Une solution de sucres à 10% stérilisée a été additionnée pour obtenir une concentration finale de 1% de substance hydrocarbonée en essai.

Le pH final de la culture a été déterminé après la stérilisation et on a noté une diminution de 0,2 à 0,3. On a examiné à la suite de ces faits les cultures après 48 heures, mais les résultats n'ont pas changé.

La solution de Dunhams a été employée pour déterminer l'Indol. On a utilisé le Bactopeptone pour tous les milieux peptonés. On a effectué les réactions d'Ehrlich, et l'hydrogène sulfuré a été recherché à l'aide de l'acétate de plomb de Kligler. Pour caractériser la réduction des nitrates, on a utilisé le nitrate de potassium à 0,1% introduit dans le milieu de Durham.

La liquéfaction de la gélatine a été déterminée par la resolidification de culture qu'on a mis dans l'eau glacée après l'incubation de 55° pendant une à deux semaines.

La coloration de Gram a été faite pour les cultures de dix-huit heures.

CHAPITRE III

PROPRIETES BIOLOGIQUES et BIOCHIMIQUES CARACTERISTIQUES DES BACTERIES THERMOPHILES

Influence des facteurs biologiques et physiologiques

1° *Les relations de la concentration en ions H des milieux et de la variation de température de culture sur les thermophiles.*

L'influence de la température a été déterminée à un pH 7,0. Dans quelques milieux, la culture n'a pas réussi à 37° malgré que beaucoup de cultures ont été placées quelques semaines à 37°. Elles ont poussé à des températures plus élevées. A 55° et 63,°5 les cultures ont été mises dans des chambres spéciales pour éviter l'évaporation. Morrisson et Tanner ont dit que la température favorable pour faire pousser les thermophiles change suivant le milieu et quelques conserves probablement s'abîment si on les laisse longtemps à la température ordinaire, variant beaucoup selon les saisons. Cameron et Esty ont inoculé des conserves au moyen des thermophiles à 37°, mais celles-ci n'ont pas été modifiées pendant trois ans. Il paraît probable que le pH favorise la température de croissance et des essais ont été faits

pour déterminer la relation entre le pH et la température. Des milieux de bœuf ont été préparés de pH 5 à 8,2. Pour l'étude de chaque organisme au moins trois différents essais de pH neutre ont été faits. Vingt-trois tubes ont été mis en étude et le pH des différentes cultures a été varié. Une série de quatre tubes a été ensemencée avec la culture de 24 heures à l'aide de la pipette Pasteur. Ces tubes, par série de quatre, ont été mis à 37°, 43°, 55° et 62°,5. Les milieux de pH 5,4 sont restés stériles à toutes les températures ; tandis que tous les tubes de pH 5,8 à pH 8,2 ont donné des cultures positives à l'exception de celui passé à 37° =. A 43°, la croissance se manifestait après 18 heures ; aux pH de 6,5 à 7,0, les tubes alcalins ont montré un trouble plus grand que les milieux acides. La température de 62,5 a douné un résutlat analogue à celui obtenu à 55°.

2° *Les relations entre la température et les conditions d'aérobiose ou d'anaérobiose sur la croissance de Bactéries thermophiles.*

Rabinowitch a trouvé que la température minima de croissance pour les cultures est moindre en anaérobiose qu'en aérobiose. Elle constate que « le minimum pour les cultures en aérobiose a été fixé au-delà de 42° et pour les cultures anaérobiose le minimum descend jusqu'à 34° ».

D'après les travaux, Kruyff conteste ces résultats. Selon cet auteur, on peut faire pousser ces organismes altérant les conserves à basse température dans des conditions d'anaérobiose.

Kruyff a fait des expériences en ensemençant deux milieux à base de destrose, préalablement stérilisés. Une série de ces milieux a été préparée pour réaliser des conditions d'anaérobiose. A cet effet, l'auteur a recouvert les substrats d'une couche de vaseline. Ces milieux n'ont pas permis le développement des parasites de conserves à = 37°, mais la croissance se manifestait à = 43° d'une façon absolument comparable à celle des cultures en aérobiose. Des dosages neplielomotoïques permettaient de déterminer que le taux de germes développés dans les deux séries de milieux était identique.

La résistance de spores des bactéries thermophiles à la chaleur

La résistance de spores thermophiles à la chaleur favorise la contamination continuelle des conserves.

Bigelero et Esty ont montré la relation entre le temps et la température d'un côté et du pH du milieu de l'autre côté sur le nombre de spores apparaissant et la résistance de ces éléments.

Morrisson et Tanner ont déterminé la mort des bactéries thermophiles en les exposant de trois à quatre minutes à 20 heures à 100°.

Des études ont été faites pour étudier la durée de résistance des spores dans l'eau bouillante.

On a constaté que 17 heures à 100° ne suffisent pas pour détruire les spores.

Essais d'inoculation des conserves par des cultures pures de bactéries thermophiles

Des flacons à larges ouvertures ont été remplis par des conserves, bouchés par du coton, stérilisés pendant 45 minutes. On a fait des essais en aérobiose et anaérobiose. Les flacons mis à l'étuve à 55° se troublent rapidement et le substrat devient acide (pH 4,7 à 5,5).

Des préparations microscopiques effectuées à l'aide de ces conserves ont montré des bactéries Gram négatives, identiques à celles des cultures de départ. Cependant les mêmes conserves employées directement, sans restérilisation préalable, donnaient toujours des colonies différentes, formées soit par des organismes Gram positifs, soit par des microbes Gram négatifs.

Discussion

Après plusieurs expériences, on a trouvé que les conserves qui ne sont pas toujours suffisamment stérilisées, contiennent souvent des spores qui se développent dans des conditions favorables d'oxygène et de température.

Cameron et Esty ont montré que les bactéries thermo-

philes responsables des altérations de conserves sont des anaérobies facultatifs ou obligatoires.

Ils ont trouvé que les boîtes de conserves qui ne gonflent pas ne contiennent pas de bactéries à spores, seules capables de résister à une stérilisation imparfaite.

Les variations de ces microorganismes vis-à-vis de la réaction de GRAM sont en relation avec l'âge et le pH des milieux de culture. Sur les milieux à base de dextrose, les frottis montrent des bactéries GRAM négatives, tandis que les jeunes cultures sur milieu gélosé ont donné des souches Gram positives. La croissance des thermophiles sur le milieu de pomme de terre a été faible et l'aspect des colonies ainsi que l'action biochimique sont difficiles à déterminer à la suite de la pauvreté du développement. L'action diastatique a été contrôlée et a donné un résultat négatif avec les méthodes usuelles.

Léopold NÈGRE a, de son côté, essayé de déterminer les *Caractères biochimiques des bactéries thermophiles*.

Cet auteur croit que la connaissance de ces caractères biochimiques permettrait de faire une classification rationnelle de toutes les espèces thermophiles, et jetterait probablement un jour nouveau sur le rôle joué par elles dans la nature.

La plupart des auteurs se sont bornés à noter en passant l'action sur les milieux de cultures ordinaires des bactéries thermophiles isolées par eux.

Certains liquéfient et peptonisent la gélatine (Mac FAYDEN et BLAXALL : Souches : Thermo-bactérium IV, V, VI, Streptothrix thermotolérant) ; la plupart ne la peptonisent pas.

Le bouillon simple et la peptone salée sont alcalinisés (RABINOWITCH : Souches I, II, III, IV, VI, VII, VIII) ou acidifiés (Souches : V) et donnent une réaction positive de l'indol (Souches : I, II, IV, VI, VII, VIII) ou du nitrosoindol (Souches : II, III, IV, V). Les uns coagulent le lait (Mac FAYDEN, TSIKLINSKI : Thermomyces lanuginosus, B. thermophilus), avec acidification (Souches : I de TSIKLINSKI, Thermoactinomyces vulgaris, Thermomyces lanuginosus). D'autres alcalinisent le lait (Souches : II, III, IV, VIII, et Streptothrix thermotolérant).

Les nitrates sont parfois réduits en nitrites (plusieurs espèces de Rabinowitch).

Les hydrates de carbone complexes, comme l'amidon peuvent être saccharifiés (Mac Fadyen : plusieurs espèces ; Schillinger) et transformés en eythrodextrine avec acidification du milieu (Souches I, II III, Streptothrix), ou alcalinisés (Souches IV, V, VI, VII).

Le saccharose est interverti parfois, (Laxa, Tsiklinski : Thermomyces, lanuginosus). Le bacille thermophile de Laxa acidifie les milieux sucrés contenant du glucose, fructose, lactose, galactose, raffinose, dextrine, amidon, en produisant de l'anhydride carbonique et de l'acide lactique.

Mac Fadyen et Blaxall ont étudié l'action sur la cellulose des bactéries thermophiles isolées par eux. Deux de ces bactéries décomposent la cellulose pure préparée selon la méthode Cross et Bevan. Schillinger a étudié la fermentation des divers milieux : lait pur, bouillon simple, bouillon lactosé et glucose, par l'action des bactéries thermophiles.

Oprescu a essayé de précipiter les diastases et a recherché à quelle température les b. thermophiles les produisaient le plus abondamment.

Répartition des bactéries thermophiles

Les premières bactéries thermophiles ont été isolées des sources des eaux thermales.

Certes et Garrigou, à Luchon, Karlinski et Teigh dans les eaux thermales d'Ilidze en Bosnie ont découvert des bactéries thermophiles vivant à 64° et à 51° ; Ruis Wittlin a étudié plusieurs bactéries thermophiles des sources de Ragatz Pfafers (Suisse).

Mlle Tsilinski, qui a étudié la flore microbienne thermophile des enfants de Paris et de Moscou, a trouvé chez ceux de Moscou une flore thermophile plus abondante et plus variée.

Rôle joué par les bactéries thermophiles dans la nature

Quelques rares auteurs ont essayé d'expliquer le rôle rempli par les bactéries thermophiles dans la nature. Globig pense que, si elles sont plus fréquentes dans les couches supérieures du sol, c'est parce qu'elles ont besoin

de la chaleur solaire. Lydia Rabinowitsch considère que la propriété de vivre à des températures élevées est un simple phénomène d'adaptation. D'autres auteurs les ont recherchés dans les fermentations à températures élevées et ont essayé d'élucider le rôle qu'elles joient dans ces fermentations.

Ferments lactiques

Il y a d'abord tout un groupe de ferments qu'on peut qualifier de thermophiles, ce sont les ferments lactiques. Ces ferments lactiques donnent de l'acide lactique aux dépens du sucre de lait ou d'autres sucres.

Ces microbes jouent un grand rôle en laiterie, distillerie, tannerie, brasserie, boulangerie, dans la préparation de certains produits agricoles (choucroute, concombres, etc.).

Fermentation des jus sucrés

Les jus sucrés provenant des presses ou des diffuseurs sont sujets à des fermentations très actives, produites par des microbes, aérobies et anaérobies. Ces microbes sont apportés par la terre avec les betteraves. Ce sont des sacharomyces, des coccus ou des bacilles. Beaucoup de ces microbes appartiennent au groupe des thermophiles.

Fermentation des feuilles de tabac

Dans la fermentation des tabacs, nous allons encore retrouver les actions microbiennes dues à des thermophyles. Les feuilles de tabac simplement desséchées sont impropres à la consommation : elles doivent subir des transformations de nature microbienne encore peu éclaircies.

Microbes intestinaux

Un grand nombre d'auteurs avaient trouvé des bactéries thermophiles dans le canal intestinal des animaux et de l'homme. Anitschkov a cherché à se rendre compte du nombre de bactéries thermophiles qui vivaient dans

l'intestin comparativement à celui des microbes ordinaires. Les résultats de ces recherches lui permettent de conclure que le nombre des microbes thermophiles qui se trouvent dans l'intestin est peu élevé. Il en déduit qu'ils ne doivent pas avoir un grand rôle à y jouer et que les thermophiles et les aérobies obligatoires ne trouvent pas dans le canal intestinal de l'homme des conditions qui leur soient favorables (température de développement optima en présence de l'oxygène).

Conclusions

Ce rapide aperçu nous a permis de constater que les microbes thermophiles sont largement répandus dans la nature. Ils ont été trouvés à peu près dans tous les milieux. Nous avons vu que tous les degrés étaient représentés dans la thermobiose.

Parmi les bactéries parasites des vertébrés, pathogènes ou non, on trouve également ces deux groupes de thermophiles, les facultatifs et les obligatoires.

CHAPITRE IV

LES BACTERIES THERMOPHILES CELLULOSOLYTIQUES

J.-A. Viljoen, E.-B. Fred et W.-H. Peterson ont fait des travaux sur les thermophiles cellulosolytiques.

(The fermentation of cellulose by thermophile bacteria. *Jour. of. Agric. Sc.* t. XVI, f. I, PP. I-17. 1927).

L'organisme isolé par ces auteurs paraît être différent de ceux isolés par Langwell et Lymn et par Mme Khouvine. C'est également un bacille produisant une spore terminale (forme Plectridium). La différence touche principalement à la fonction cellulosolytique ; le bacille de Mme Khouvine étant strictement spécifique et incapable de faire fermenter les saccharides et polysaccharides autres que la cellulose, tandis que les deux premiers le font. La résistance des spores qui supportent 115° pendant 35 minutes et 118° pendant 25 minutes, a permis d'obtenir une culture pure. L'isolement au moyen des plaques de gélose cellulosée ne réussit pas, même en tenant les plaques dans un dessicateur où l'on a fait le vide : le microbe paraît perdre à la suite de ce mode de culture la faculté de faire fermenter la cellulose. Il la perdait également après culture sur des milieux dépourvus de cellulose.

Pourtant en la cultivant dans la profondeur de tubes étroits de gélose cellulosée, les auteurs sont arrivés à isoler ce bacille à l'état pur, sans lui faire perdre sa fonction. La raison de ces relations n'est certes pas facile à comprendre. La fermentation a lieu entre 43° et 65°. Elle ne marche plus à 38° et à 72°, quoique l'organisme reste vivant.

Les auteurs ont observé que la cellulose est beaucoup plus vite digérée lorsque le milieu est ensemencé avec le bacillus Thermocellum chauffé 5 à 10 minutes à 100°. La quantité de cellulose détruite dans un milieu qui en renferme 1 à 5 % est de 70 à 95 %.

Suieszko a isolé en 1933 le bacille cellulosolytique thermophile, Gram positif. Les spores apparaissent au bout de 4 à 5 jours de cultures sur des bâtonnets plus longs et souvent incurvés. Elles sont terminales, tout-à-fait sphériques et 2 à 3 fois plus larges que les bacilles.

On n'obtient pas de culture dans les milieux contenant d'autres hydrates de carbone que la cellulose.

La température optima est de 60° à 62°.

Il attaque 70 à 80 % de la cellulose avec production de 55 à 56 % d'acide acétique et de 14 à 16 % d'alcool éthylique.

Mentionnons encore un cellulosolytique isolé par Cowles et Rettger en 1931. Le bacillus cellulososolvens, qui est Gram négatif et forme également des spores, mais qui n'est thermophile qu'accidentellement, car il a sa température optimum de croissance à + 37°.

Sur les exigences de culture d'un microbe Butyrique thermophile

Bidault : Nous avons isolé d'un lot de conserve de viande (bœuf bouilli additionné de bouillon de viande concentré et gélatiné) un bacille thermophile strict d'une exigence remarquable au sujet de l'état physique du milieu nutritif d'ensemencement, exigence qui offre, croyons-nous, un réel intérêt au point de vue de la biologie générale des bactéries.

Les caractéristiques de ce microbe — non pathogène pour les animaux d'expérience — que nous désignons

sous l'initiale F, sont les suivants : bacille fin, allongé, de dimensions variables, moyennement mobile, Gram négatif, donnant des spores terminales, d'abord arrondies, puis ovalaires. Dans les milieux propices, il ne se développe bien, avec toutes ses activités biologiques, qu'au-dessus de 37° ; la température optimum est comprise entre 50° et 60° ; la végétation ne se ralentit qu'au-delà, étant encore apparente à 70°.

Le bacille F ne pousse pas dans le bouillon peptone ordinaire alcalin, ni dans le lait, ni dans les infusions végétales, en présence de l'oxygène libre, pas plus qu'en son absence ; toutefois, dans le bouillon de viande acidifié à l'acide lactique de 2 à 5 p. 1000, dans le bouillon de carotte naturellement acide (pH environ 5,5), on observe un très léger développement. Les matières azotées, sous forme de protides ne paraissent pas indispensables ; en tous cas, le microbe sécrète des diastases protéolytiques peu énergiques. Il ne réduit pas les nitrates. Les hydrates de carbone lui conviennent particulièrement, mais comme nous le verrons plus loin, quand ils sont utilisés sous un certain état physique. Il saccharifie l'amidon, mais n'attaque que faiblement la cellulose. Quant aux sucres, le microbe F fait fermenter : le glucose et le maltose, dont la présence dans les milieux est très favorable ; le saccharose, la dulcite, la mannite lui conviennent aussi ; il ne donne pas de gaz aux dépens du lévulose et du lactose, dont l'addition n'a pas d'effet appréciable sur les cultures. La présence des sels de plomb est nettement défavorable ; la couleur du milieu n'est pas changée ; en présence du sous-nitrate de bismuth on observe, au contraire, un noircissement léger. Des cultures se dégage une odeur très nette d'acide butyrique ? Les courbes de distillation des acides volatils, ainsi que les recherches de caractérisation mettent en évidence, en plus ou moins grandes proportions, suivant la constitution chimique des milieux employés : les acides formique, acétique, propionique, butyrique, avec prédominance de ce dernier.

Nous avons dit qu'en anaérobiose, les milieux liquides ne donnaient pas sensiblement de culture ; au sein de la gélose peptonée, de la gélose sucrée de Veillon, les résultats ne diffèrent pas. Pour obtenir un développement net, il est nécessaire que les ensemencements soient faits

dans des milieux visqueux ou pâteux : ainsi la gélose semi-solide de Lignières lui convient admirablement, de même le foie cuit, finement haché, la purée de pommes de terre, de carottes, les infusions de paille de foin, gélosées dans les conditions sus-indiquées. On observe que le meilleur milieu est constitué par la purée de pommes de terre gélosée. Alors la production d'acide butyrique atteint ses proportions les plus élevées. La formation des spores est à son maximum dans l'emploi d'amidon. Le microbe F pousse également bien dans la gélose-carotte semi-solide, mais il n'y donne que peu ou point de spores. L'influence de la viscosité des milieux a été nettement dégagée de plusieurs expériences que nous avons faites en faisant varier celle-ci soit en incorporant, à la solution nutritive, des quantités progressives de gélose, de gomme arabique, de silice (Milieu de Winogradsky). Nous avons constaté qu'il existait dans l'indice de viscosité du milieu, une zone optimum. Ainsi, pour un milieu renfermant 2 p. 100 de peptone, 5 p. 100 de glycose (pH = 5,5) et une teneur en gélose allant de 1 à 10 p. 1000, cette zone optimum est comprise entre 4 et 7 p. 1000. Par ailleurs, l'étude de ce microbe thermophile apporte quelques contradictions à des notions jusqu'ici admises : contraste entre la thermostabilité relativement faible de sa spore (destruction en une demi-heure en milieu bouillon de pH = 5,5 entre 105° et 110°) et le haut degré de thermophilie du bâtonnet même ; sensibilité au NaCl (l'action empêchante se manifeste déjà à partir de 3 p. 100 de sel), alors que les thermophiles stricts sont en général, bien plus résistants ; enfin, absence de culture en présence d'O libre, ce qui n'est pas habituellement le cas des microbes thermophiles de nécessité.

Nous avons ainsi épuisé ce sujet des thermophiles, mais nous tenons à mentionner encore à titre de curiosité une opinion de Svante Arrhenius sur l'origine des bactéries thermophiles.

Svante Arrhenius : Les Bactéries thermophiles - 1928 et la pression de radiation du soleil.

Cet auteur a envisagé la possibilité du transport de germes vivants d'un corps céleste à un autre, à la Terre en particulier, mais il admettait qu'il serait toujours dif-

ficile de distinguer les germes d'origine céleste de ceux qui ont pris naissance sur terre. Selon lui, la connaissance des Bactéries thermophiles permet aujourd'hui de résoudre cette difficulté. Ces bactéries, qui se développent à des températures comprises entre 40 et 80°, n'existent pas seulement dans les sources thermales et dans les terrains volcaniques surchauffés, mais aussi, bien qu'en nombre moindre, dans l'air et à la surface du sol. Comme elles périssent en quelques semaines à la température ordinaire, et plus rapidement encore, aux températures inférieures à 0°, elles ne peuvent persister d'une année à l'autre dans l'atmosphère et sur le sol terrestre. On est conduit par là à supposer qu'elles proviennent d'un lieu situé hors de la terre et où règne une température moyenne de 40 à 80°. Or, la température de la planète Vénus est évaluée à 50° environ. L'auteur admet que nos bactéries thermophiles terrestres sont originaires de Vénus ; au moment où cette planète se trouve entre le soleil et nous, elles sont transportées vers la Terre par la pression de radiation solairee. La durée de la migration des germes d'une planète à l'autre n'excéderait pas deux jours.

III

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE Ier

TECHNIQUES EMPLOYÉES

Nos recherches se sont adressées, comme nous l'avons dit, au début de notre travail, à des conserves de viande et principalement à des conserves de pâtés de foie, destinées à l'armée français et provenant des stocks de l'Intendance Militaire française.

L'examen préliminaire de ces conserves consiste à contrôler le gonflage ou le bombage des boîtes par l'étuvage.

Ce phénomène peut être attribué à deux causes :

Le gonflage des boîtes de conserves par fermentation bactérieuse, donc par l'infection microbienne de la conserve.

Le gonflage des boîtes de conserves par l'influence d'un système électro-physique, donc réaction d'électrolyse due au métal de la boîte, qui se modifie en formant une pile électrique.

Ce phénomène est caractérisé par un faible gonflage de la boîte, qui devient floche. A l'ouverture, le fer blanc à l'intérieur des boîtes est modifié et on note la présence de taches noires de place en place.

La viande est devenue pâle.

La graisse est saponifiée ; il y a formation de sulfure d'étain. La gelée est devenue liquéfiante et lactésante. Il y a formation de petite quantité de gaz.

L'Oxygène a disparu, l'Azote est toujours présent, mais il y a eu apparition d'Hydrogène et d'Anhydride Carbonique.

En opposition à ce phénomène électro-physique, on constate chez les boîtes infectées une fermentation abondante :

L'infection peut provenir de diverses causes :

1) par une mauvaise stérilisation ;

2) par une viande ou des abats altérés et préalablement pollués ;

3) par une infection secondaire due à une mauvaise fermeture de la boîte. Celle-ci peut avoir une fissure minuscule, fermée en apparence par une matière albuminoïdique coagulée à la suite de la stérilisation.

Dans ce dernier cas, on peut déceler la cause de l'infection secondaire de la façon suivante :

1) On place la boîte gonflée dans un Bain-Marie à 80°. On notera au bout d'un certain temps un dégagement de bulles de gaz au niveau de la fissure de la boîte.

2) On peut placer la boîte altérée dans le vide, il y aura un suintement de la gelée liquéfiée à travers la fissure.

3) On peut encore faire l'épreuve à la fluorescéïne.

Si ces épreuves restent négatives, on doit procéder à l'examen bactériologique de la boîte gonflée et du lot entier concernant la fabrication de la journée.

Éxamen bactériologique des conserves

L'examen bactériologique des conserves de viande et d'abats doit s'effectuer en deux phases :

1) Contrôle par étuvage des boîtes fermées.

2) Contrôle par prélèvement stérile du contenu des boîtes ouvertes avec toutes les précautions d'une asepsie rigoureuse.

Nous avons procédé de la façon suivante :

Les lots à examiner ont été divisés en trois séries. La première série comportant 3/5 des boîtes du lot a été employée pour l'épreuve de l'étuvage.

La deuxième série, se composant d'1/5 des boîtes du lot sert pour l'examen bactériologique direct par frottis et cultures.

La troisième série, contenant le dernier cinquième des boîtes du lot a été mise de côté et était conservée comme témoin de contrôle éventuel.

La première partie a été à son tour encore divisée en deux parties :

Deux cinquièmes des boîtes sont étuvées pendant huit jours à + 37°.

Un cinquième des boîtes est étuvé pendant 3 à 4 jours à + 55°.

C'est cette organisation qui nous a donné finalement les meilleurs résultats et qui nous a permis de mener à bien nos recherches et de contrôler finalement nos observations par trois épreuves effectuées dans des conditions différentes :

Etuvage à + 37°.

Etuvage à + 55°.

Contrôle bactériologique direct par l'examen microscopique et par la culture.

Il va de soi que nous avons chaque fois contrôlé par un examen bactériologique, microscopique et cultural les boîtes qui avaient gonflé par l'étuvage soit à + 37°, soit à + 55°.

En outre, nous avons toujours pris nos précautions de capter les gaz, qui s'échappaient au moment de l'ouverture des boîtes gonflées, pour les examiner et pour les déterminer dans la mesure du possible.

Disposition pour la culture en anaérobiose

Pour effectuer nos cultures en anaérobiose, nous nous sommes servi d'un appareil à vide, qui se compose essentiellement d'un grand verre de conserve (3 litres) fermé hermétiquement par un couvercle en verre. Deux anneaux en caoutchouc superposés assurent une parfaite étanchéité. Un support en fil de fer placé à l'intérieur du verre main-

tient les tubes de cultures en position verticale dans un vide très poussé. Un manomètre à mercure fixé à l'intérieur sur le support métallique permet à tout instant de mesurer le degré du vide. A ce support est fixé une éprouvette fermée par un bouchon en caoutchouc et que traverse un tube en verre courbé en U renversé. Une extrémité inférieure du tube se termine à l'intérieur du tube à quelques deux à trois mm. du fond du tube. L'autre extrémité, libre, se termine à 2 cm. du fond du vase de conserve, et elle est étirée en forme capillaire. L'éprouvette renferme une solution alcoolique de potasse de formule :

KOH . . . . . 10 grs
Alcool à 70° . . . . . 100 cc.

Au fond du vase de conserve, on dispose environ 10 grs. d'acide pyrogallique (pyrogallol) : C6H3(OH)3.

Le vide se fait d'abord à l'aide d'une aiguille hypodermique de modèle courant, reliée à une trompe à vide à l'aide d'un tube en caoutchouc. L'aiguille est placée entre les deux anneaux de caoutchouc destinés à produire l'étanchéité du verre.

Dès que l'atmosphère intérieure du verre de conserve accuse une pression inférieure à celle surmontant la solution de potasse — ce qui se produit rapidement — la solution de potasse commence à s'écouler goutte à goutte par le tube capillaire extérieur au fond du verre. Peu à peu, elle imbibe l'acide pyrogallique. L'oxygène est donc absorbé par le pyrogallol de potassium, qui se forme instantanément.

On maintient l'aiguille jusqu'à ce que le manomètre accuse un vide presque parfait. A ce moment, on la retire brusquement d'entre les anneaux de caoutchouc, qui continueront à assurer le vide dans le verre de conserve. Si par la suite, une petite quantité d'air pratiquement d'oxygène, venait à y pénétrer, elle serait absorbée par le pyrogallol.

Ce dispositif permet donc de placer rapidement les tubes de culture ensemencés dans le vide pratiquement parfait et de les y laisser pendant plusieurs jours et même des semaines, tout en permettant de pouvoir les observer et de suivre l'évolution des colonies. Ce dispositif peut être placé à l'intérieur d'une étuve chauffée et le

thermomètre fixé dans le verre de conserve permet de contrôler à chaque moment la température de croissance des cultures.

Les milieux de culture utilisés au cours de notre travail ont été ceux habituellement employés en microbiologie :

Bouillie de viande, Milieu T, Bouillon Martin simple et glucosé, Bouillon de cerveau.

Gélose ordinaire, Gélose glucosée, Gélose glucosée-glicérinée.

Gélatine glucosée.

Les milieux spéciaux pour le contrôle des propriétés biochimiques de notre organisme.

Nous ne trouvons donc pas nécessaire d'insister plus en détail ici sur la préparation et l'ensemencement de ces milieux employés selon les méthodes classiques.

CHAPITRE II

ETUDE MORPHOLOGIQUE ET ISOLEMENT DU BACILLUS BIFERMENTANS

En opérant selon les méthodes exposées ci-devant pour mettre les boîtes de conserves à l'épreuve du gonflage, nous nous sommes rendu compte, qu'il s'agissait dans les cas positifs de bactéries thermophiles, car le gonflage se manifestait tout d'abord plus rapidement à l'étuve réglée à + 55° et apparaissait souvent après 24 heures d'étuvage, mais en règle générale, le phénomène de bombage devient manifeste entre le deuxième et le troisième jour, alors que les boîtes placées à + 37° ne commençaient à se déformer que vers le cinquième ou le sixième jour d'étuvage.

D'autre part, les symptômes de la fermentation et de la formation des gaz se manifestaient d'une façon beaucoup plus intense à + 55° qu'à + 37°, de sorte que d'habitude on est obligé de retirer les boîtes de l'étuve déjà pendant le deuxième jour d'étuvage, sinon on risque l'éclatement de la boîte dans l'étuve à la suite de la pression interne de la boîte, due au développement intense de gaz.

Nous avons donc employé la leçon tirée de ces observations en ensemençant les prélèvements effectués dans ces boîtes de conserves de pâté de foie gonflées par l'étuvage à + 55°.

Comme milieu d'isolement, nous avons utilisé le bouillon Martin glucosé. Les tubes de culture ensemencés ont été chauffés pendant 10 minutes à + 65° au bain-marie, puis placés à l'intérieur de notre dispositif à vide décrit antérieurement. Après avoir pratiqué un vide très poussé dans l'appareil, le tout a été placé à l'étuve réglée de telle façon à ce que la température dans le dispositif à vide se stabilisait à + 55°.

Dans ces conditions, il se formait dans le Bouillon Martin glucosé après 24 à 36 heures, un trouble abondant avec un dégagement gazeux. Vers le troisième jour de culture, on remarque dans le fond des tubes de culture un dépôt visqueux, adhérent aux parois du tube et ne se détachant que difficilement par l'agitation sous forme de flocons cohérents.

Ces cultures ont été interrompues le cinquième jour pour pratiquer un réensemencement sur nouveau milieu. Puis nous avons effectué l'étude morphologique de cette seconde génération de notre bactérie, qui, grâce aux dispositions préléminaires que nous avons indiqué, se développait à l'état de pureté sans autre contamination.

A l'état vivant, soit à l'ultramicroscope sur fond noir, soit en goutte pendante à l'aide de la boîte de culture de Borrel, cultivé à + 55° et examiné 24 heures après l'ensemencement, la bactérie se trouve à l'état de bâtonnets droits ou légèrement incurvés, les pôles opposés sont nettement arrondis. Ces extrémités semblent renflées ; de sorte que les deux parois de la membrane ne sont pas parallèles ; la partie moyenne du plastide est un peu étranglée. Examinée dans ces conditions, la bactérie semble immobile et nous n'avons pu mettre en évidence l'existence de cils.

Le plus souvent, chaque plastide bactérien est isolé et complètement libre, rarement on trouve des formes diplobacillaires. Dans les conditions expérimentales où nous travaillions, c'est-à-dire sous l'ultramicroscope ou en boîtes de Borrel, les bactéries étaient exposées à l'aérobiose ; elles semblent alors complètement amobiles et souvent entourées d'une gaîne.

Les deux éléments diplo-bacillaires sont généralement de taille inégale. La coloration vitale au bleu polychrome permet de constater que nous avons affaire dans les

formes avec des stades jeunes en état de scicciparité et on peut noter tous les états de transition, de la première ébauche de la division cellulaire jusqu'à la séparation définitive des deux bâtonnets encore à peine ralliés ensemble par un mince pont coloré et formé uniquement par l'unité de la membrane.

Examinée à un stade plus âgé et prélevé dans le fond déposé des tubes de culture, la bactérie présente un aspect différent.

On remarque un bacille épais, droit, à extrémités encore faiblement arrondies, isolé, en chaînettes de 5 à 10 articles. Souvent même ces chaînettes deviennent plus importantes et traversent tout le champ microscopique. Les différents bâtonnets semblent de dimension plus grande par la présence de condensation mucilagineuse, formant une gaîne autour des plastides. Nous avons examiné ce fait plus en détail, comme on le verra plus loin.

A côté de ces bâtonnets groupés en chaînettes, on trouve également dans les cultures un peu plus âgées des bâtonnets ne présentant plus l'aspect en haltère, que nous avons décrit plus haut ; au contraire, ici, les plastides bactériens présentent un diamètre plus grand vers le centre du bâtonnet et celui-ci prend un aspect ellyptique très peu prononcé. Souvent on remarque aussi des éléments ovalaires de taille plus courte que les bâtonnets et que nous avons pu caractériser par les préparations fixées et colorées spécialement comme spores.

Nous voyons donc que notre organisme isolé de boîtes de conserves de pâté de foie pourrait être qualifié de polymorphe ; mais en réalité, la bactérie, une fois ses propriétés fixées et adaptées à un milieu spécifique et favorable, offre toujours un ensemble homogène et ces caractères morphologiques évoluent dans un sens consécutif comme nous allons pouvoir le démontrer par la suite au moyen des recherches spéciales que nous avons effectué et dont nous donnons maintenant les détails.

Étude de la mobilité

Nous avons précédemment vu que notre organisme semblait immobile, au moins dans les conditions expérimentales dans lesquelles nous travaillons.

Pour pouvoir poser un diagnostic consciencieux, nous avons effectué une expérience plus rigoureuse et fournissant une preuve plus probante de la mobilité propre de notre organisme. Nous nous sommes servi d'un dispositif décrit par Nepveux. Un tube en verre est chauffé dans sa partie moyenne, puis étiré finement à bec Bunson à environ 1 millimètre de diamètre. En étirant, on enroule cette partie autour d'un charbon de Berzelius, afin d'obtenir une spirale en serpentin, dont les deux extrémités à diamètre initial sont en position verticale.

On introduit dans la partie profonde et enroulée un bouillon Martin gélatiné à 6 %, donc présentant une viscosité assez prononcée. On bouche les deux orifices larges avec du coton cardé et on stérilise le tout à l'autoclave à + 120°. Après refroidissement, on y introduit stérilement et avec précaution, sans agiter, dans une des branches verticales un bouillon phéniqué à 1 p. 1000, dans l'autre branche du bouillon Martin. On ensemence le bouillon phéniqué avec une petite dose de culture et on place sans agiter le tube à l'intérieur de notre appareil à vide. On pratique le vide et on porte le tout à l'étuve réglée de façon à ce que la température intérieure du dispositif à vide soit de + 55°.

Il se forme alors dans les premières 48 heures un trouble dans le bouillon Martin, qui augmente très vite, tandis que le développement devient apparent seulement vers le cinquième jour de culture dans la branche renfermant le bouillon phéniqué, ensemencé cependant initialement.

Par conséquent, par suite d'un chimiotactisme négatif vis-à-vis de l'acide phénique, notre organisme, à l'aide de sa mobilité propre a réussi dans un temps relativement court à traverser le liquide gélatiné d'une consistance visqueuse assez marquée et sur une distance d'environ 40 centimètres. De ce fait, nous nous croyons en droit de conclure que notre organisme à l'état jeune possède une mobilité idiogène remarquable.

L'existence de cette mobilité paraît déjà indiquer que notre bacille possède des cils. Afin de caractériser l'existence de ces organes, nous avons procédé aux expériences suivantes :

Nous avons tout d'abord utilisé dans ce but des cultu-

res très jeunes sur gélose Martin. Les cultures ont été placées à l'étuve à + 55° dans notre appareil à vide. Puis à partir de la deuxième journée, nous avons préparé avec tous les soins nécessaires et à plusieurs reprises des frottis et des préparations entre lame et lamelles. Nous n'avons cependant pas réussi, soit par la méthode de Van Ermengem, soit par la méthode à l'encre de fuchsine de Nicolle et Morax, à mettre en évidence des images, qui pouvaient être considérées incontestablement comme des cils.

D'autres expériences ont été nécessaires pour nous permettre de solutionner ce problème.

Des cultures effectuées dans des boîtes de Borrel sur des milieux liquides, dans les conditions qui nous ont déjà servi antérieurement pour examiner la mobilité du bacille, nous ont ici aussi donné satisfaction. En ajoutant à la culture en goutte pendante, et avec précautions, une goutte d'une solution de Collargol à 5 %, on constate facilement que le fond rouge-brun ainsi obtenu, la présence de nombreux cils péritriches dans les jeunes cutures âgées de 24 à 48 heures et ceci principalement dans les milieux au bouillon-sérum et au bouillon de veau.

La méthode de Burri à l'encre de chine nous a donné le même résultat et a confirmé nos constatations antérieures obtenues par les examens entre lame et lamelles au moyen de l'éclairage sur fond noir.

Ces différentes techniques nous ont donc permis d'observer que notre organisme a des cils péritriches très abondants, mais comme nous venons déjà de le mentionner, ils sont seulement libres et en parfait état de développement et de fonctionnement dans les cultures jeunes, sur les deux extrémités du grand axe du bâtonnet, formant un bouquet à chaque pôle de l'organisme, tandis qu'au centre, ces cils semblent réunis et agglomérés les uns aux autres par une masse mucilagineuse.

Cette sécrétion du mucilage devient sous certaines conditions culturales tellement intense que l'on a souvent l'impression de l existence de véritables capsules entourant le plastide, comme on a l'habitude de le voir chez les pneumocoques dans les prélèvements pathologiques.

Afin de mettre au point cette question, nous avons cultivé notre organisme tout d'abord sur différents milieux.

Sur les milieux solides, ce phénomène se manifeste d'une façon beaucoup plus intense que dans les substrats liquides. Sur un milieu complexe gélatiné glucosé, glycériné, renfermant une trace de craie, nous avons obtenu des résultats très remarquables de façon à ce que la zone hyaline brillante entourant le corps bactérien avait souvent plus de deux fois la largeur du bacille-même. Mais, en réalité, il ne s'agit pas ici d'une capsule dans le sens strict du mot, mais d'une sécrétion mucilagineuse plus ou moins épaisse, difficilement colorable, faiblement réfringente, due à des phénomènes physiques tels que GAMALEIA l'a pu observer sous l'influence des modifications d'humidité et des pressions osmotiques. Ceci a été mis en évidence par la technique de LASSEUR.

Recherche des capsules

Nous avons employé la technique à l'encre de chine. Celle-ci a été étendue de deux fois son volume d'eau distillée, portée à l'autoclave à plus de 120° pendant vingt minutes pour faciliter la précipitation ; on centrifuge alors jusqu'à ce que l'on obtient un dépôt appréciable. On décante, on porte dans des tubes effilés et on abandonne au repos pendant 3 à 4 semaines. Puis on décante encore. L'encre ainsi préparée est diluée préalablement avec de l'eau distillée en quantité suffisante pour que le liquide obtenu donne avec le matériel cultural une émulsion formant un fond sombre si on l'étend sur une lame.

On voit alors dans ces conditions, au microscope, le corps bactérien de notre organisme très brillant et réfringent, tandis que la couche mucilagineuse environnante et légèrement éclairée fournissant une zone hyaline remarquée. Des préparations-témoins effectuées avec un prélèvement de pneumocoques ont nettement démontré la différence de la nature de ces deux sortes d'enveloppes bactériennes.

Nous pouvons donc conclure que notre organisme était pourvu de capsules.

Recherches sur les propriétés de coloration

Notre bactérie se colore facilement avec les colorants basiques d'aniline, employés ordinairement dans les laboratoires.

Ils se colorent facilement par la méthode de GRAM et résistent à la décoloration à l'alcool pendant trois minutes.

La méthode de coloration de CLAUDIUS donne le même résultat. Nous pouvons donc conclure que notre bactérie est GRAM positive.

Dans les frottis colorés par ces techniques, on constate que notre organisme se présente sous forme de bâtonnets à extrémités arrondies, souvent la partie moyenne du corps bactérien est moins colorée et légèrement réfringente, tandis que les deux pôles sont très avides de colorant. (Fig. 1).

Dans la partie réfringente, beaucoup plus remarquable dans les vieilles cultures, nous avons soupçonné la présence de spores. Nous avons donc essayé de caractériser des éléments de résistance ou de conservation.

Recherches sur la formation de spores

Afin de caractériser la formation des spores par notre bactérie, nous avons employé la méthode de LOEFFLER modifiée :

On fixe le frottis pendant deux minutes dans l'alcool à 95°, on rejette celui-ci et on continue la fixation par le chloroforme en laissant agir encore deux minutes. Puis sans laver, on traite le frottis pendant trois minutes à l'aide d'une solution d'acide chromique à 5 %. On rejette le réactif, on lave à l'eau et on colore au moyen de la fuchsine de ZIEHL en chauffant à trois reprises jusqu'à émission de vapeurs. On rejette le colorant et on décolore par l'acide sulfurique à 5 % pendant cinq secondes. On lave à l'eau et on continue à décolorer au moyen d'alcool à 95°. On lave pour enlever l'excès d'alcool, et on recolore la préparation au moyen d'une solution aqueuse de bleu de méthylène pendant trente secondes. On lave à l'eau et on sèche pour examiner. Cette méthode ne nous a pas donné de résultat satisfaisant, et nous avons été obligé de la modifier de la façon suivante :

Méthode modifiée pour la coloration des spores

Nous préparons un frottis et nous fixons à la chaleur. On couvre la lame d'une solution d'acide chromique à

5 % et on chauffe une fois jusqu'à émission de vapeurs. On laisse refroidir, on rejette l'acide chromique en lavant avec de l'eau et on recouvre la préparation une seconde fois de la solution d'acide chromique que l'on fait agir pendant vingt minutes. Puis on colore avec la fuchsine de Ziehl, comme ci-dessus.

On lave à l'eau et on décolore au moyen d'acide sulfurique à 5 % pendant cinq secondes. On lave à l'eau et on continue la décoloration dans l'alcool à 95°. On lave à l'eau et on contrecolore avec une solution aqueuse de bleu de méthylène. On lave à l'eau et l'on sèche.

Au moyen de cette technique, nous avons pu mettre en évidence la présence de spores chez notre organisme qui se colorent en brun-rougeâtre alors que le corps plastidien de la bactérie est coloré en bleu-pâle. Ces spores sont principalement placées au centre du corps bactérien ou exceptionnellement d'une façon subterminale Nous avons pu noter qu'il ne se forme qu'une seule spore par bâtonnet. (Fig. II).

Détermination du caractère morphologique et des dimensions

Nous avons déjà donné antérieurement quelques détails morphologiques sur notre bactérie. Nous pouvons donc résumer ici ces propriétés de la façon suivante :

Sur milieux solides de choix, notre bactérie se présente le plus souvent sous forme de bâtonnets isolés ou groupés en courte chaînette formée de 3 à 5 éléments. Ceux-ci ont une dimension moyenne de 5 à 8 μ de longueur sur 0,8 à 1,3 μ de largeur.

Sur les milieux liquides en général et sur le bouillon Martin glucosé en particulier, la bactérie se met très souvent en chaînes plus ou moins longues et pouvant même traverser tout le champ microscopique (fig. III). Dans ces substrats, la bactérie affecte alors une forme un peu plus grande et surtout son diamètre en largeur est augmenté.

Ces bâtonnets se présentent avec des extrémités faiblement arrondies, légèrement hypertrophiées vers les deux pôles à l'état jeune. A ce stade, la bactérie est munie de cils et elle est mobile. Elle est dépourvue de capsules et

fortement GRAM positive. Dans les cultures plus âgées, la forme en haltère disparaît par la formation centrale des spores. Ces spores sont au nombre de une par bâtonnet et forment dans les milieux liquides un dépôt muqueux adhérent d'une façon prononcée aux parois du tube. Par agitation forte, ces éléments peuvent être détachés du verre et donnent alors des flocons spiralés cohérents ou zoogléiformes nageant à l'intérieur du substrat.

Les dimensions de spores sont de 0,3 à 2 μ sur 0,2 à 0,6 μ de large.

CHAPITRE III

PROPRIETES BIOLOGIQUES

Nous savons actuellement que les caractères morphologiques et culturaux, les propriétés chimiques et physiologiques sont plus ou moins relatives et dépendent en grande partie des conditions physiques et biologiques dans lesquelles les bactéries sont cultivées. Il est donc indispensable avant d'aborder l'étude des propriétés biologiques et physiologiques mêmes de fixer les conditions les plus favorables et les limites extrêmes qu'un organisme exige pour pouvoir normalement assimiler, se multiplier et conserver sa vitalité. L'importance de ces recherches est donc devenue une nécessité absolue, depuis que l'on a trouvé le moyen de fixer très exactement la concentration en ions H d'un milieu et que l'on a pu constater que l'assimilation d'un organisme est en rapport direct avec ce facteur et la température de culture de la bactérie en étude.

Afin de réaliser ces conditions, nous avons donc tout d'abord été obligé de constituer un milieu synthétique favorable et réalisant avec facilité les conditions exigées par notre bactérie. Après de multiples recherches, notre choix s'est arrêté sur le substrat suivant :

Asparagine	3 grs
Phosphate bipotassique	1 grs
Sulfate ferrique	traces
Chlorure de calcium	0,1 grs
Sulfate de magnésie	0,3 grs
Chlorure de sodium	1 grs
Glucose	5 grs
Eau distillée	1000 cc

Ce milieu nous a donné un rendement sensiblement analogue à celui obtenu sur bouillon Martin. Il a été amené aux 3 pH différents : 5,6, 7,2 et 8,4. Après ensemencement, les cultures ont été placées à des températures de + 37° et de + 55°. Nous avons examiné comparativement le développement et la luxuriance de ces cultures après leur séjour à l'étuve de 24, 48, 96 et 192 heures. Nous avons ainsi constaté que microscopiquement et macroscopiquement, notre bactérie se développait normalement et d'une façon satisfaisante sur notre milieu synthétique aux pH 7,2 et 8,4.

Nous avons par la suite constitué trois séries de tubes à concentration en ions H différents depuis pH = 4,2 jusqu'à 9,2 et chaque série a été ensemencé avec notre bactérie. Les mesures ionométriques ont été effectuées avec le potentiomètre à électrode d'antimoine. La première série ensemencée a été examinée après 48 heures et après quatre jours de séjour à l'étuve. Les cultures ont été filtrées à travers un filtre de Jéna ; celui-ci a été pesé avant et après la filtration, après un séjour à l'étuve à + 65° jusqu'à poids constant. La récolte optima indiquant le milieu de concentration en ions H de choix pour la vitesse de croissance de notre organisme a pu ainsi être déterminée et se fixe à pH = 8,2.

La deuxième série de tubes ensemencés nous a montré que les limites de croissance pour notre bactérie sont situées dans les conditions ci-dessus mentionnées à des concentrations en ions H inférieures à pH = 5,8 et supérieures à pH=8,9. Les mesures de la concentration en ions H après une culture de vingt-quatre jours sur notre milieu synthétique nous ont démontré que la bactérie par sa croissance et son assimilation amène tout d'abord une acidification passagère de notre milieu pour faire virer la réaction après quinze jours de culture environ vers l'alcalinité. Nous pouvons donc résumer ces résultats de la façon suivante :

Le pH optimum de croissance pour notre bactérie se trouve à pH 8,2. Les limites de croissance pour les concentrations en ions H ont été déterminées entre 5,8 et 9,9.

Action de la température

Nous nous sommes servi du même substrat pour déterminer l'optimum de croissance et les températures-limite de croissance pour notre bactérie. Nous avons déterminé la courbe optima de croissance en relation avec la réaction du milieu de culture par la technique indiquée par J. Meyer.

Nous avons pu ainsi déterminer que la récolte optima est obtenue en rapport avec le minimum de temps de culture à une température entre 45 à 55°. Les limites de croissance en relation avec les températures ont été déterminées comme étant de +27° à +68°.

Pour déterminer la résistance de la bactérie vis à vis de la chaleur, nous avons employé des cultures âgées de quinze jours. Une série de pipettes de Pasteur de petits diamètres ont été aseptisées et remplies à moitié de milieux renfermant les cultures émulsionnées par agitation. On a pratiqué le vide selon la technique de Vignal, on a scellé les deux extrémités des pipettes avec les précautions nécessaires. Les ampoules ainsi obtenues ont été placées dans des bains-marie réglés à des températures de +45°, +55°, +65° +90° et +100°.

Un séjour de six heures à +65° n'a nullement modifié la vitalité de la bactérie. Les réensemencements pratiqués au moyen de ces cultures sont redevenus positifs. Un chauffage de douze heures à +55° n'inhibe pas la vitalité de l'organisme. Un chauffage de deux heures à +90° ne suffit pas pour tuer la bactérie, qui a même résisté à une chaleur de +100° pendant le même laps de temps.

A la suite de ces constatations, nous avons effectué des expériences à l'autoclave à la température de +120°. Dans ces conditions, la bactérie a été tuée en y séjournant pendant deux heures, mais la revivification a été encore possible après un chauffage pendant une heure à cette température.

D'autre part, la bactérie évolue encore très lentement sur notre milieu synthétique fixé au pH optimum =8,2 à la température de +27°, alors que la culture reste négative à +18°.

Nous pouvons donc résumer les résultats de ces expériences de la façon suivante :

Température optima de croissance : de +45° à +55°.
Température-limite de croissance : de +27° à +65°.
Température-limite de résistance : 1 heure à +120°.

D'autre part, afin de déterminer la température-limite inférieure, une culture, en ampoule scellée a été placée pendant 48 heures dans une glacière, entourée de glace et de sel marin. Après ce temps l'ampoule a été retirée et des réensemencements ont été pratiqués. Ceux-ci ont toujours donné un résultat positif. La bactérie est donc très résistante à une chaleur très élévée de même qu'au froid prolongé.

Action de la lumière

La lumière n'exerce aucune action d'arrêt sur le développement de la bactérie. Des cultures ont été placées pendant deux mois à des endroits exposés à une insolation directe. Les bacilles par le réensemencement n'avaient jamais perdu ou modifié leur vitalité ou leurs propriétés physiologiques.

Aérobiose et Anaérobiose

Nous avons vu au cours de l'exposé antérieur qu'il s'agissait d'une bactérie anaérobie et tous nos essais que nous avons décrit plus haut ont été réalisés dans les conditions d'anaérobiose stricte. Nous avons donc jugé nécessaire d'effectuer de nouvelles recherches afin d'examiner si la croissance de notre bactérie était possible en présence d'Oxygène.

A cet effet, des cultures sur milieux de choix ont été placées d'un côté dans l'étuve à +55° dans les conditions habituelles de culture en aérobiose et de l'autre côté dans une atmosphère d'une pression relativement réduite d'Oxygène. Ces cultures ont été examinées après un séjour de 4, respt. de 8 jours et nous ont démontré que la multiplication des germes restait dans les deux conditions négative.

Les mêmes cultures ont été employées pour faire des expériences de revivification en anaérobiose. Nous avons ainsi pu constater que le séjour à l'air ne tuait pas notre bactérie, car nos cultures anaérobies devenaient positives. De ces expériences, nous pouvons conclure que nous avons affaire à une bactérie anaérobie stricte et durable.

CHAPITRE IV

CARACTERES CULTURAUX

Après avoir pu déterminer que notre bactérie était une anaérobie stricte, nous avons procédé à des recherches pour fixer les propriétés culturales de ce microbe. Tous les faits que nous allons décrire ci-dessous, sont donc en rapport avec ce caractère.

Recherches sur milieux liquides

Bouillon Martin simple : Culture peu abondante, formation d'un léger voile à la surface du milieu et dépôt visqueux au fond du tube. Le liquide surnageant serte limpide. La culture dégage une odeur putride.

Bouillon simple : La culture est très pauvre et il ne se forme qu'un très léger dépôt visqueux en profondeur ; odeur désagréable, peu pénétrante.

Bouillon de cerveau : La culture est abondante sans noircissements. Le milieu entier devient trouble.

Bouillon Martin glucosé : Culture luxuriante avec un trouble apparaissant dès les premières vingt-quatre heures. Tout le substrat est trouble, plus tard, il y a formation d'un dépôt muqueux, fortement adhérent aux parois des tubes et dégagement des gaz. En vieillissant, le liquide surnageant s'éclaircit et le dépôt très compact devient visqueux. Par agitation forte, les masses précipitées au fond du tube peuvent être détachées en flocons

zoogléiformes et cohérents. La culture dégage une odeur putride très prononcée.

Bouillon glucosé ordinaire : Trouble abondant dans les premières vingt-quatre heures avec dégagement de gaz. La culture est cependant moins luxuriante que sur bouillon Martin glucosé. Le voile qui se forme très tôt à la surface du milieu se déchire prématurément et tombe au fond du tube où il constitue un dépôt visqueux adhérent qui se détache par l'agitation sous forme de flocons spiralés cohérents. La culture dégage toujours une odeur putride.

Recherches sur milieux solides

Bouillon Martin glucosé, gélosé : La culture est très luxuriante dès les premières vingt-quatre heures. Par ensemencement en stries, il se forme des colonies isolées prenant vite un diamètre de 0,4 à 2 m/m ; ces colonies s'agrandissent rapidement pour atteindre dans les quarante-huit heures 5 m/m de diamètre. La périphérie de ces colonies est irrégulière et devient astériforme. Plus tard, il se forme des ramifications latérales et les colonies fusionnent entre elles pour former un voile muqueux fortement adhérent au substrat. Les colonies isolées ont un centre surélevé et prennent l'aspect d'un bouton de guêtres, mais les zones périphériques sont aplaties et formées de différentes couches concentriques. Au début ces colonies ont une teinte blanc-crèmeuse qui vire bientôt vers une coloration brun-sale. La culture dégage toujours une odeur putride.

Gélose de Veillon : La culture en profondeur donne des colonies très caractéristiques affectant dans les premières quarante-huit heures une forme elliptique ou lenticulaire. Après ce temps, les colonies évoluent par fermentation de bourgeons latéraux et bientôt elles affectent une forme de masse cristallisée tel que nous avons l'habitude de les voir dans les cristaux d'acide urique. Il y a dégagement de gaz et l'odeur en est putride.

Gélatine glucosée : Les colonies prennent la même forme que sur les milieux précédents suivant que l'on ensemence en stries ou en profondeur. Il y a production de gaz et le milieu d'abord ramolli se liquéfie lentement.

CHAPITRE V

PROPRIETES BIO-CHIMIQUES

Recherches des propriétés protéolytiques

Action sur le sérum coagulé : Ensemencé sur tube de sérum coagulé, notre organisme pousse très vite ; la culture est visqueuse et blanc-grisâtre. L'aspect microscopique des prélèvements sur ce milieu nous montre la forme en bâtonnets groupés par chaînettes. Le sérum est liquéfié à partir du troisième jour de culture et prend un aspect brun-noirâtre.

Action sur le blanc d'œuf : Dans des tubes de Bouillon Martin Glucosé de pH =8,2 nous avons introduit de petits cubes de blanc d'œuf coagulé par la chaleur et stérilisé à l'autoclave. Le milieu a été ensemencé et placé à des températures de +37° et de +55°. La bactérie se développe très normalement formant un léger voile à la surface du milieu et en dépôt crémeux au fond du tube. Le blanc d'œuf est attaqué dans les premiers huit jours et il se produit une liquéfaction lente. Le blanc d'œuf devient d'abord transparent et ensuite vitreux. Dans les très vieilles cultures le cube prend la consistance de gélatine et la liquéfaction est poussée à tel point que l'on peut l'aspirer dans une pipette de PASTEUR.

Action sur la gélatine : Nous avons déjà antérieurement cité les résultats de nos expériences sur ces milieux, et nous avons vu que la gélatine est très rapidement ramolie par l'action protéolytique de la bactérie et la liquéfaction complète s'effectue au cours des huit premiers jours de culture.

Action sur le bouillon + foie : La culture est abondante sans noircissements.

Action sur le bouillon + sang : Culture luxuriante avec phénomène d'hémolyse marqué.

Action sur le bouillon bilie : La culture reste chétive. Sur milieu de bile pure, nous n'avons pu constater aucun développement.

Action sur le lait : Nous avons contrôlé l'action du bacille sur le lait en employant un milieu de lait tournesolé, placé à +37° et à +55°. Nous constatons dans les deux conditions la coagulation du lait vers le deuxième jour de la culture. A ce moment, il ne se manifeste aucun symptôme d'acidification du milieu. Vers le sixième ou huitième jour de culture, le précipité de caséine formé, commence à se liquéfier et le lait s'éclaircit. A ce moment, on note une acidification du milieu. Ce phénomène est très curieux et prouve qu'il y a présence de présure et de caséase, mais la bactérie ne semble pas attaquer le lactose du milieu. L'acidification tardive semble donc imputable au phénomène protéolytique ou lypolytique, car il se forme dans le milieu des traces de glucose et de glycérine.

Recherche de l'hydrogène sulfuré

Un grand nombre de microbes produit de l'hydrogène sulfuré au dépens des albuminoïdes, caractère de différenciation très important pour le diagnostic des bactéries. Nous avons préparé des tubes renfermant 5 cc. de gélose. Après stérilisation et liquéfaction de la gélose, nous y avons introduit une goutte de solution d'acétate neutre de plomb à 10 % et de l'hyposulfite de soude à 1 %, préalablement stérilisée. On mélange avec soin et on refroidit sous le robinet d'eau. Ce milieu est ensemencé avec notre organisme en piqûres le long des parois du tube. Ces milieux sont placés dans les conditions d'anaérobiose connues et ils noircissent à partir du troisième jour de culture. Il y a donc production d'hydrogène sulfuré.

Recherches de L'Indol

La bacille a été ensemencée sur une solution de peptone Chapoteaut à 5%. Après cinq jours de culture, nous

avons ajouté 1 cc. d'une solution de nitrite de potassium à 1 0/00 et huit gouttes d'acide sulfurique pur concentré. On porte la partie supérieure du tube à ébullition, il apparaît alors une coloration rose très nette. Lorsque la réaction est terminée, on y introduit 2 cc. d'alcool amylique et on agite avec précaution. On laisse reposer, pour que la séparation des deux liquides s'effectue et l'on constate une coloration rose très marquée de la couche alcoolique. Nous pouvons donc conclure que notre bactérie produit de l'Indol sur eau peptonée.

Recherches des propriétés réductrices

Pour caractériser ces propriétés, nous avons ensemencé notre bactérie sur milieu de rouge neutre d'un côté, et sur un milieu nitraté de l'autre côté. Ce milieu avait la composition suivante :

Peptone.	10 grs.
Chlorure de sodium.	3 grs.
Glucose.	2 grs.
Nitrate de potassium.	1 gr.
Eau distillée.	1.000 cc.

Sur milieu de rouge neutre, nous n'avons pu observer un symptôme de réduction ; ce milieu est resté invariablement rouge.

Sur le milieu nitraté, nous avons effectué le huitième jour de la culture des réactions au moyen :

1) du réactif de Griess ;
2) du réactif de Trostrof ;
3) du réactif de Nessler.

Nous avons ainsi pu constater avec les deux premiers réactifs la présence de nitrite dans notre milieu, et le réactif de Nessler a donné une réaction positive par l'apparition d'une teinte jaune démontrant l'existence de l'ammoniaque.

Nous pouvons donc conclure que notre organisme réduit les nitrates avec production de nitrite et d'ammoniaque ; tandis que le rouge neutre n'est pas réduit.

Actions sur les glucides

Afin de vérifier l'action biochimique sur notre organisme vis-à-vis des glucides et d'autres substances ternaires, nous avons eu recours au procédé de Grimbert et Legros. Nous avons donc employé un bouillon carbonaté, tournesolé contenant un tube à hémolyse renversé (tube Besson), auquel nous avons ajouté au fur et à mesure les matières ternaires, préalablement stérilisées, à examiner.

Nous avons ainsi constaté que notre bactérie en présence de peptone comme substance quaternaire attaque rapidement le glucose, la saccharose, le maltose, le mannose, la galactose, la glycérine et le sorbitol. Il est sans action sur le lévulose, le lactose, l'amidon, l'aniline et le glycogène.

Dans les milieux où l'assimilation des glucides est positive, la teinte rouge du tournesol apparaît déjà dans les premières vingt-quatre heures de culture, et le tube à hémolyse se remplit d'acide carbonique mis en liberté par la carbonate de calcium introduit dans le milieu. Nous avons cité ci-dessus les glucides dans l'ordre chronologique selon la valeur numérique et quantitative de l'assimilation de ces produits.

Nous pouvons donc en conclure que notre organisme assimile le glucose, la saccharose, le maltose, le mannose, la galactose, la glycérine et le sorbitol avec acidification du milieu.

CHAPITRE VI

POUVOIR PATHOGENE

Vu les conditions expérimentales dans lesquelles nous avons travaillé et les ressources très limitées que nous avions à notre disposition, nos expériences à ce sujet ont été très restreintes. Nous avons utilisé à ce sujet trois cobayes. Chacun de ces cobayes a été réservé à une injection d'une émulsion de notre bactérie pratiquée d'une façon différente.

La culture employée pour ces expériences a été une culture pure âgée de huit jours sur milieu de Bouillon Martin glucosé. Cette culture a été centrifugée stérilement, et le dépôt obtenu par décantation a été divisé en trois lots d'un milligramme chacun :

Une fraction a été émulsionnée dans 100 cc de sérum physiologique, et cette émulsion a été inoculée par voie sous-cutanée à raison de 2 cc au premier cobaye.

Les deux autres fractions ont été diluées au moyen de 1.000 cc de sérum physiologique et nous ont servi à l'inoculation intrapéritonéale et intramusculaire pour les deux derniers cobayes. L'injection intrapéritonéale comportait 2 cc d'émulsion, alors que l'injection intramusculaire s'élevait à 5 cc.

Les deux cobayes inoculés par voies sous-cutanée et intrapéritonéale ne manifestaient aucun symptôme de malaise à la suite de ces interventions. Par contre, le cobaye traité par l'injection intramusculaire montrait à partir du quatrième jour de l'inoculation la formation d'une

tuméfaction locale qui augmentait pendant les jours suivants pour aboutir vers le dixième jour à une abcédation. L'abcès évoluait pendant trois semaines pour se fistuliser ensuite avec écoulement d'un pus crêmeux, lié à odeur putride. Dans ce pus, nous avons pu mettre en évidence par voie microscopique et par la rétroculture la présence de notre organisme en état de pureté. Le cobaye maigrissait rapidement et succombait au bout de la treizième semaine de la maladie. A l'autopsie, nous n'avons cependant pu déceler des lésions internes infectueuses. Il existait uniquement le foyer local montrant une tuméfaction considérable des tissus musculaires environnants. N'ayant pu contrôler ce résultat par des expériences plus profondes, nous ne nous croyons pas en droit de conclure à la pathogénéité de notre organisme, nous pouvons cependant supposer que cet organisme est dangereux et pourrait occasionner sur des terrains propices des troubles graves par son pouvoir pyogène.

Des denrées contenant ce germe sont de toutes façons à considérer comme nocives et doivent être rejetées pour la consommation humaine, — ceci d'autant plus que nous avons pu constater que cette bactérie possède un pouvoir protéolytique très prononcé et il est à présumer que les conserves contaminées par ce germe sont toxiques à la suite de l'apparition de produits de dégradation agissant en poison.

CONCLUSIONS GENERALES

A la suite de nos recherches sur des conserves de viande et d'abats, nous avons élaboré ce travail en le divisant en trois parties.

Dans la première partie, nous avons essayé de donner un aperçu général sur l'importance de l'industrie des conserves en Amérique, en Allemagne, en Grande-Bretagne, en Norvège, en Italie et en France. Nous avons exposé dans ces différents chapitres la législation règlant la fabrication des conserves dans ces différents pays, et nous avons essayé de tirer nos conclusions sur la valeur alimentaire des conserves résultant de ces diverses règlementations.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous avons donné un aperçu historique sur le grand nombre de bactéries thermophiles que nous avons pu trouver en établissant notre bibliographie. Nous avons été amené à ces recherches par suite de nos travaux personnels qui ont eu trait à une bactérie thermophyle. Dans un premier chapitre, nous donnons les généralités sur les bactéries thermophyles. Dans le deuxième chapitre, nous avons envisagé la flore bacétrienne particulière des conserves de viande et de légumes. Le troisième chapitre énumère les propriétés spécifiques, biologiques et biochimiques des bactéries thermophyles des conserves connues jusqu'à ce jour.

Nous avons tenu à ajouter à cet historique un dernier chapitre ayant trait aux bactéries thermophyles cellulosolytiques. Nous avons relaté ces germes de propriétés spéciales, étant donné la difficulté que nous avons rencontré pour la classification de notre bactérie.

Dans la troisième partie de notre travail, nous exposons nos travaux personnels.

Il nous a été donné d'isoler une bactérie thermophyle anaérobie stricte et durable à partir de conserves de pâté de foie qui se caractérise par les propriétés suivantes :

Morphologiquement, il s'agit de bâtonnets isolés ou groupés en chaînes plus ou moins longues, mesurant de 5 à 8 μ de longueur, sur 0,8 à 1,3 μ de largeur. Ces bâtonnets se présentent avec des extrémités faiblement arrondies, légèrement hypertrophiées vers les deux pôles à l'état jeune. A ce stade, la bactérie est mobile et munie de cils. Dans les cultures âgées la bactérie devient légèrement hypertrophiée et forme des spores centrales ou subterminales. Ces éléments mesurent de 0,3 à 2 μ de longueur, sur 0,2 à 0,6 μ de largeur.

La bactérie est GRAM poistive et ne forme pas de capsules.

Au point de vue propriétés physiologiques, il s'agit d'une anaérobie stricte, thermophyle ayant sa température optimum de croissance entre + 45° et + 55°. Les températures-limite de croissance ont été fixées entre + 27° et + 68°. La bactérie résiste à un traitement de six heures à + 65°, à un chauffage de douze heures à + 55° et deux heures d'exposition à + 100°. La revivification de ces souches est encore possible après un chauffage d'une heure à + 120° et devient négative par le traitement dépassant une heure à cette dernière température. Un séjour à une température en-dessous de 0° pendant deux jours n'a pas inhibé la vitalité de l'organisme.

Le pH optimum de croissance pour notre bactérie se trouve à pH = 8,2. Les limites de croissance pour les concentrations en ions H du milieu ont été déterminées entre 5,8 et 8,9.

La lumière n'a aucune action inhibitrice sur la croissance de la bactérie.

Les caractères culturaux essentiels déterminés pour notre germe peuvent se résumer de la façon suivante :

En milieux liquides de choix, il se forme un trouble abondant avec dégagement gazeux, puis formation d'un dépôt visqueux et adhérent aux parois des tubes se fragmentant par agitation énergique en flocons compacts et zoogléiformes.

Pour ce qui est des milieux solides favorables on note l'apparition de colonies à aspect particulier, elliptique ou lenticulaire, émettant des bourgeons latéraux, qui aboutissent à la formation d'éléments agglomérés et mamelonnés, ressemblant à des cristallisations d'acide urique. Tous les milieux déga-

gent une odeur putride et donnent lieu à un dégagement de gaz.

Nous avons pu déterminer les propriétés biochimiques de notre organisme qui a un pouvoir protéolytique très prononcé sur le sérum coagulé, sur la gélatine, sur le blanc d'œuf et sur la viande. Le lait est modifié par la sécrétion d'une présure et d'une caséase. La réaction reste alcaline jusqu'à la digestion tardive de la caséase et des matières lipidiques, où elle vire vers une acidité légère à la suite de la fermentation du glucose et de la glycérine libérée par la saponification de ces substances et l'apparition d'acides aminés.

Nous avons pu noter la production d'Hydrogène sulfuré et d'Indol, pas de réduction du rouge neutre, mais réduction des nitrates en nitrites et en ammoniaque.

Comme gaz, nous pouvons donc constater l'apparition d'Hydrogène sulfuré, d'Anhydride Carbonique, d'Ammoniaque et de Méthane.

Les propriétés biochimiques sur les sucres peuvent se résumer de la façon suivante : l'organisation assimile le glucose, la saccharose, la maltose, la mannose, la galactose, la glycérine et le sorbitol avec acidification du milieu ; il est sans action sur le lévulose, le lactose, l'amidon, l'inuline et les glycogènes.

Nous avons effectué des recherches restreintes sur le pouvoir pathogène de notre bactérie qui nous ont démontré que l'inoculation intra-musculaire chez le cobaye aboutit à la formation d'une tuméfaction locale allant jusqu'à l'abcédation et la mort du cobaye.

Nous ne nous croyons pas en droit de conclure à la pathogénéité de notre organisme, nous pouvons cependant supposer qu'il est dangereux et peut occasionner sur des terrains propices des troubles graves par son pouvoir pyogène.

Etant donné l'ensemble de ces constatations, nous avons pu en conclure que notre organisme ne peut être classé dans le groupe des différentes bactéries thermophyles antérieurement décrites, faisant partie de la flore bactérienne des conserves. Nous avons donc effectué des recherches nouvelles et nous nous croyons en droit de pouvoir ranger cette bactérie dans le groupe des bactéries anaérobies GRAM positives à spores centrales ou subterminales créé par WEINBERG, NATIVELLE et PRÉVOT.

Ce groupe a été divisé par ces auteurs en six sous-groupes dont le cinquième est formé par les anaérobies pathogènes, protéolytiques avec l'exemple-type du bacillus sporogène et ses variétés.

Dans ce groupe du bacillus sporogène, les auteurs rangent quelques autres bactéries, notamment le bacillus bifermentans, ayant énormément de caractères communs avec l'organisme que nous venons de décrire.

Les auteurs donnent la description suivante en ce qui concerne la systématique de ce germe :

« La place de ce microbe dans la systématique a fait l'objet de nombreux travaux.

« Tissier fut frappé de l'analogie de ce germe avec le bacillus sporogène Metchnikoff, mais la morphologie, l'absence de mobilité et de cils, l'absence d'agglutination par le sérum anti-sporogènes lui permirent de différencier ces deux espèces.

« Vraisemblablement le bacille anaérobie immobile et sporulé, signalé par Dupérier dans les cas de gangrènes gazeuses et que l'auteur considère comme une forme intermédiaire entre le Vibrion septique et le Bacille perfringens, n'est autre que le Bacillus bifermentans. Miss Hempl a isolé dans un cas analogue un germe qui semble très voisin du Bacillus bifermentans.

« Hall a d'abord admis la dénomination de Clostridium bifermentans pour les souches immobiles ; il en a séparé par contre, les formes mobiles qu'il rattachait à l'espèce Centrosporogènes. Ce n'est pas l'avis de Drake et Sturges, qui ont montré, comme nous l'avons vu plus haut, qu'on peut toujours mettre en évidence la mobilité de toutes les souches du Bacillus bifermentans lorsqu'on prend le soin de les examiner en tubes capillaires scellés.

« Des études nouvelles poursuivies par Hall et ses élèves, leur ont permis de reconnaître que l'anaérobie décrit sous le nom de Bacillus centrosporogènes n'est autre que le Bacillus bifermentans. Il n'est donc pas étonnant que Mc Coy et Mc Clung aient trouvé que le Bacillus centrosporogènes et le Bacillus bifermentans ont les mêmes antigènes H et O. »

Nous rangeons donc notre bactérie isolée de conserves de pâté de foie dans ce même groupe, et nous la considérons comme une variété du Bacillus bifermentans se différenciant par ses propriétés biochimiques vis à vis des glucides et par son pouvoir pathogène et nous proposons de l'appeler : Bacillus bifermentans, non pathogènes.

Des denrées contenant ce germe sont de toute façon à considérer comme nocives et doivent être rejetées pour la consom-

mation humaine, ceci d'autant plus que nous avons pu constater que cette bactérie possède un pouvoir protoélytique très prononcé et doit former dans les conserves contaminées des produits de dégradation très toxiques. La contamination des conserves par cette bactérie doit être facile et assez fréquente, vu sa grande résistance vis à vis des températures élevées et sa propriété de pouvoir survivre à une stérilisation effectuée dans de mauvaises conditions.

FIG. I

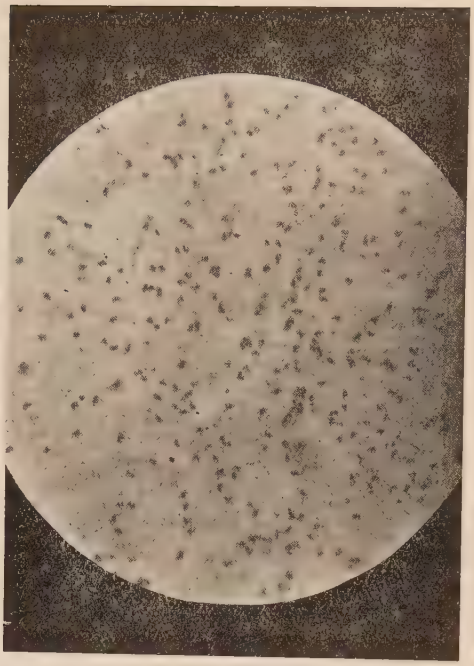

FIG. II

FIG. III

FIG. IV

NOTES BIBLIOGRAPHIQUES

1° Morrisson et Tarner. — *Botanical Gazette*, t. 77, 1924.

2° Rosenthal. — Lysobactéries thermophiles. *Bul. Soc. Biol.*, t. 93, 1925.

3° Viljoen, Fred and Peterson. — *Journ. of Agricult. Sciences*, t. 21, 1927.

4° Michonstine. — Bactérials thermophiles of sol. *Ann. Inst. bactérial. agronom.*, n° 24, 1926.

5° Bidault. — Conservation des viandes. *Comptes rendus Soc. Biologique*, 1926-1930.

6° Nègre Léopold. — Bactéries thermophiles du Sahara. *Thèse Sciences.*

7° Veillon. — *Annales Inst. Pasteur*, 1922.

8° Coolhaas. — Ferments thermophiles. *Needertl. Zydschr. voor Hyg. Micr. Scrol.*, t. I, 1926.

9° Arrhenius. — *Zeitschrift fur Physiol. u. Chimie*, 1927.

10° William A. Feirer. — Bactéries thermophiles du sol. *Soc. Scienc.*, t. 23, 1927.

11° Schaw. — Thermophiles dans viandes cuites. *Journ. of Inf. Deseases*, t. 43, 1928.

12° Hussong et Hammer. — Bactéries thermophiles dans les laits. *Journ. of Bact.*, t. 15, 1928.

13° Weinberg et Ginsbourg. — Traité de bactériologie, t. I, Anaerobie

14° A.R. Prevot. — *Thèse*, 1933.

15° M. Weinberg. — Les microbes anaerobie.

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION 9

II. HISTORIQUE 13

PREMIERE PARTIE

*Chapitre I*er. — La valeur alimentaire des conserves. 13
Chapitre II. — Les conserves en Amérique..... 17
Chapitre III. — Les conserves en Allemagne.... 20
Chapitre IV. — Les conserves en Grande-Bretagne. 25
Chapitre V. — Les conserves en Norvège..... 32
Chapitre VI. — Les conserves en Italie..... 34
Chapitre VII. — Les conserves en France..... 38

DEUXIEME PARTIE

*Chapitre I*er. — Les bactéries thermophiles en général..... 41
Chapitre II. — La flore bactérienne connue des conserves..... 46
Chapitre III. — Propriétés spécifiques biologiques et biochimiques des bactéries thermophiles... 61
Chapitre IV. — Les bactéries thermophiles cellulosolytiques..... 68

III. TRAVAUX PERSONNELS. 73
*Chapitre I*er. — Techniques employées 73
Chapitre II. — Etude morphologique et isolement de la bactérie en expérience..... 78
Chapitre III. — Etudes biologiques..... 87
Chapitre IV. — Etudes culturales..... 91
Chapitre V. — Propriétés biochimiques..... 93
Chapitre VI. — Etude des propriétés de pathologie expérimentale..... 97

IV. CONCLUSIONS GENERALES 99

V. FIGURES. 105

VI. NOTES BIBLIOGRAPHIQUES..... 107

Clermont-Ferrand, le 17 Mars 1941.

Le Président du Jury,

A. SARTORY.

Vu et approuvé :

Clermont-Ferrand, le 23 Avril 1941.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

A. SARTORY.

Vu et permis d'imprimer :

Clermont-Ferrand, le 25 Avril 1941.

Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,

Pour le Recteur :

Le Vice-Président du Conseil de l'Université :

A. DANJON.

i